鹿 児 島 大 学

水 産 学 部 紀 要

第 10 巻

LIBRARY
JUN 19 1962
FISH & WILDLIFE SERVICE

MEMOIRS OF THE FACULTY OF FISHERIES KAGOSHIMA UNIVERSITY

Vol. 10

Published by
The Faculty of Fisheries, Kagoshima University
Kagoshima, Japan
December, 1961

鹿児島大学水産学部紀要　第10巻

目　次

1. カキおよびシンジュガイ卵の受精と卵核胞の崩壊（英文）……和田清治… 1

2. 印度洋における放射能の検索（英文）……斉藤　要… 9

3. 1959年より1960年における鹿児島県南方海域の魚類，海水および
プランクトンの放射能汚染に関する研究……鮫島宗雄・斉藤　要…15

4. 細菌プロティナーゼによる魚肉アクトミオシンの分解と凝固について……日高富男…23

5. 海藻のビタミンB群に関する研究—I
ビタミン含有量について……金沢昭夫…38

6. 魚皮鞣製に関する基礎的研究……越智通秋…70

7. ゴマサバの体温と釣獲層の関係について……田ノ上豊隆…90

8. 大型回流水槽に依る1000噸型漁船の船型試験結果について……奈良迫嘉一…96

9. 鹿児島におけるLoranによる時間差測定の結果について……源河朝之・田口一夫…102

資　料

鹿児島大学練習船かごしま丸の建造費について……高橋健蔵…118

Fertilizability of Crassostrea and Pinctada Eggs as Related to Germinal Vesicle Breakdown

Seiji K. WADA*

Abstract

1. Rock oyster, *Grassostrea echinata*, and three species of pearl oyster, *Pinctada fucata*, *P. maxima* and *Pteria penguin*, were used as materials.

2. The discharged eggs of *C. echinat* and *P. fucata* are at the first maturation prophase. The eggs of these species obtained from the excised gonads, though they are underripe when stocked in the ovaries, can be rendered fertilizable before the nucleus shows any signs of breaking down.

3. The oyster eggs are progressively improved in fertilizability while kept standing in sea water. A similar situation has been obtained in *P. fucata* eggs if they are exposed to ammoniacal sea water. The pearl oyster eggs which have undergone the nuclear breakdown in plain sea water are not always fertilizable.

4. The eggs of *Pinctada maxima* and *Pteria penguin* which are obtainable from the excised gonads become mature if they are kept standing in ammoniacal sea water but not in plain sea water. The eggs of these forms are not rendered fertilizable until the beginning of the nuclear breakdown.

5. Relationships between the cortex maturation and the nuclear breakdown have been discussed. It has been postulated that these two phenomena, though very probably they are started by some identical reaction(s), are not linked with a strict cause-and-effect relation, but that each is accomplished through a divergent way in the later part. This view seems to be able to explain the known facts on a much simpler assumption as compared with the classic notion which implies the cortex maturation is induced by some substances liberated from the nucleus.

In a majority of marine invertebrates the eggs are fertilized after the breakdown of germinal vesicle but before the extrusion of the first polar body. In these forms, it has been believed that mixing of nuclear substances with cytoplasm in the egg is prerequisite to normal sperm entry. In *Crassostrea* (common oyster) and *Pinctada* (pearl oyster), the eggs discharged under quasi-natural stimuli such as sperm suspension plus warm sea water are at a stage where the nuclear membrane has just completely been dissolved. In other words, natural sperm entry takes place at this stage.

An intact germinal vesicle is, on the other hand, always preset in the egg which is obtainable by expressing the excised gonad, except in the case in which the animal is in the very act of spawning. It is, therefore, permissible to say that the eggs are usually stocked in the ovary under a somewhat underripe condition. Such eggs are, however, rendered fertilizable by an exposure to plain sea water or ammoniacal sea water even while the germinal vesicle remains intact.

* From the Faculty of Fisheries, Kagoshima University, Kagoshima-Shi, Japan.

This and other facts which will be described in this paper seem to indicate that a protoplasmic maturation of egg cortex which permits normal sperm entry can be achieved more or less, if not entirely, independently of the nuclear breakdown.

The experiments were mainly carried out at the Misaki Marine Biological Station of Tokyo University. The writer is deeply indebted to the director and other staff of the station for use of laboratory facilities. Some additional experiments were performed at Thursday Island, Queensland, Australia and at Amami-Oshima, Kagoshima Prefecture. The writer's indebtedness is also due to Mr. B. A. Norman, Dr. J. S. Hynd, Mr. T. Kuribayashi, and Mr. K. Kozuka for kindly providing him opportunities to do experiments in these places.

Materials and Methods

The Japanese common rock oyster, *Crassostrea echinata* (Quoy et Germard), and the Japanese pearl oyster, *Pinctada fucata* (Gould) (syn.: *P. martensii* (Dunker)), were mainly used as materials; some experiments were also made with other species of pearl oysters, *Pinctada maxima* (Jameson) and *Pteria penguin* (Roding).

Eggs obtained from the excised gonads were thoroughly washed with filtered sea water before use. Hyperalkaline sea water in which the concentration of added alkali was 0.5×10^{-3}N was, unless otherwise stated, used throughout the experiments. Rates of fertilization were calculated by counting from 200 to 400 eggs when the normally developing eggs were at cleavage stages. A special care was paid to make sperm concentrations roughly equal in all of the fertilization dishes in a series of experiments.

Fertilizability of Crassostrea Eggs with Intact Germinal Vesicles

In the eggs of *C. echinata* when discharged or immediately before the shedding, the hyaline nucleoplasm is observable still occupying the central area, but the nuclear membrane has been completely dissolved. Eggs are, however, fertilizable before the nucleus shows any signs of breakdown. This will be affirmed by the following facts.

When a batch of eggs fresh from the excised gonad were inseminated, the nuclear breakdown very frequently occurred in less time and in higher percentages as compared with the case in which the eggs were kept without addition of sperm. Similarly, the shape of eggs become spherical more quickly in the inseminated lot than in the non-inseminated.

It will not be out of place to state that, although the times of first polar body formation after the deposition in sea water become progressively the shorter the earlier the insemination is made, the times between those of insemination and of first polar body formation are shorter when inseminated after the nuclear breakdown than when inseminated before.

Eggs obtained from the excised gonads may or may not undergo the nuclear breakdown while they are kept standing in sea water. Batches of eggs obtained in an earlier part of the breeding season generally show small percentages of the nuclear dissolution, while in those obtained later in the season practically a hundred per cent of the eggs usually undergo the breakdown in about 15 to 25 minutes' exposure to sea water at a temperature of 25°C to 28°C.

A more clear-cut piece of evidence which will show the *Crassostrea* eggs become fertilizable before the nuclear breakdown has been obtained from the following experiments. The eggs were inseminated at varying times after deposition in sea water, and following two minutes' interaction with sperm, each lot was exposed to hypotonic (5 per cent) sea water for two minutes.

Preliminary experiments show that such hypotonic treatment deprives free sperm of their fertilizing capacity but does not affect the fertilizability of eggs. It should be noted that an attached fertilizing spermatozoon, though the tail has been greatly injured, readily enters the egg.

Results of a typical experiment are presented in the following. In this batch of eggs the nuclear breakdown occurred at about 18 minutes after deposition and in 89 per cent when the eggs were kept in sea water without addition of sperm.

Time of transfer to hypotonic sea water after deposition (in minutes)	4	6	10	15	20	30
% Development	2	15	58	77	87	94

The results indicate that the *Crassostrea* eggs progressively increase the fertilizability during the sojourn in sea water and that, since most of the eggs have developed to normal veligers, the eggs, even while the germinal vesicle remains intact, can well attain a certain level of cortex maturity which is enough to permit normal sperm entry.

Fertilizability and Nuclear Breakdown in Pearl Oyster Eggs

Three species of pearl oysters, *Pinctada fucata*, *P. maxima*, and *Pteria penguin*, were used.

(1) ***Pinctada fucata.*** As regards the state of nucleus, the discharged eggs of this form show a similar situation as those of *Crassostrea*. The eggs obtained from the excised gonad may undergo the nuclear breakdown when they enter sea water; the percentages of breakdown vary with batches of eggs, not infrequently amounting to practically a hundred.

While the discharged sperm are intensely active, the gametes obtainable from the dissected testes invariably are only slightly motile when suspended in sea water. Although the rather immotile sperm at times become moderately active in the presence of eggs, attempts of fertilization in plain sea water have

resulted in failure if gametes from the excised gonads were employed. Among scores of such trials, only about 30 per cent of the eggs at best showed some cleavages but the pattern was unexceptionally more or less abnormal.

As was reported in earlier papers (Wada, 1941, 1947, 1953; Wada & Wada, 1953), artifficial fertilization in this and other forms of pearl oysters is readily accomplished if gametes are ripened and mixed in ammoniacal sea water with $0.5-1.0 \times 10^{-3}$N NH_3. The rate of fertilization not infrequently amounts to practically a hundred per cent.

In ammoniacal sea water the nuclear breakdown of unripe eggs is markedly accelerated and immotile sperm are rendered intensely active. This effect on sperm is reversible in the sense that they become quiescent on being transferred to plain sea water. Hyperalkaline sea water with sodium hydroxide or potassium hydroxide shows a similar effect on the motility of sperm, but its effect on the eggs is far less marked.

In the experiments summarized in Table 1, batches of *P. fucata* eggs where the nuclear breakdown occurred in the great majority in plain sea water were inseminated with discharged sperm or with spermary sperm activatable in the presence of eggs. As is shown in the table, there occurred several cases in which most of the eggs remained unfertilized in plain sea water or NaOH– (or KOH–) sea water while fertilization was achieved in high percentages in ammoniacal sea water.

Table 1 Fertilizability of *P. fucata* Eggs Which Have Undergone the Nuclear Breakdown

	% Nuclear Breakdown in Plain Sea Water	% Development			
		Plain S. W.	NaOH-S. W.	KOH-S. W.	NH_3-S. W.
Exp. No.:		With Discharged Sperm			
1	79	0	2	4	66
2	80	0	70	—	76
3	80	75	79	67	82
4	99	28	69	80	—
		With Activatable Sperm			
5	90	0	9	—	90
6	95	0	0	—	92
7	100	2	80	82	81
8	97	24	71	72	—

Besides a favorable effect of ammonia on increasing the physiological maturity of gametes, these results seem to show that the nuclear breakdown as is induced by exposure to plain sea water does not necessarily result in making the eggs fertilizable.

In another series of experiments, the eggs fresh from the excised gonads

were exposed to ammoniacal sea water; they were inseminated in situ then transferred to plain sea water at varying times before and after the nuclear breakdown. Results of a typical experiment along this line are presented in the following:

Time of transfer to plain sea water after deposition in ammoniacal sea water (in minutes)	5.5	6.5	7.5	10	17
% Development	5	23	52	81	84

In this batch the nuclear dissolution took place about 15 minutes after deposition in ammoniacal sea water.

Since sperm entry does not occur in plain sea water, the results indicate that fertilizability of the eggs is progressively improved in ammoniacal sea water, reaching the maximum even before the nuclear breakdown takes place.

(2) ***Pinctada maxima and Pteria penguin.*** The eggs of these two forms which are obtainable from the excised gonads do not undergo the nuclear breakdown how long they are kept standing in plain sea water. In this respect, they differ markedly from those of *Crassostrea* and *Pinctada fucata.* It may be permissible to say that eggs of the former forms are stocked in the ovary under somewhat more undermature condition than those of the latter.

The eggs of *Pinctada maxima* and *Pteria penguin*, however, inaugurate the nuclear maturation in from 20 to 45 minutes' exposure to ammoniacal sea water with $0.4–1.0 \times 10^{-3}$N NH_3 and sometimes result in the formation of the first polar body. If the eggs from the well-developed gonad are inseminated at the time of the onset of nuclear breakdown while kept in ammoniacal sea water, practically a hundred per cent of the eggs are not infrequently fertilized.

If insemination is made while the germinal vesicle is still intact, sperm do not enter the egg until the onset of breakdown. In other words, the eggs in ammoniacal sea water are rendered fertilizable first at a stage which is heralded by the dissolution of the nuclear membrane or, at least, disappearance of the nucleolus. This can be deduced from the following two observations: (1) if the inseminated eggs were transferred to plain sea water from ammoniacal sea water before the nucleus showed any signs of breakdown, the germinal vesicle remained intact; (2) In a less concentrated (0.3×10^{-3}N NH_3) ammoniacal sea water, the eggs did not undergo the nuclear breakdown, and, if inseminated, the eggs remained intact although sperm were rendered intensely active in such hyperalkaline sea water.

Discussion

As regards the stage of nuclear maturation the egg has reached before natural sperm entry occurs i.e. when discharged, pelecypod molluscs may be classifi-

ed into the following three classes:

(1) The eggs are discharged while the germinal vesicle is intact. Examples: *Mactra*, *Spisula*, *Lutaria*, and probably other forms belonging to the family Mactridae. In these forms, the eggs become unfertilizable after the nuclear breakdown.

(2) The eggs are discharged at the first maturation prophase. Examples: *Crassostrea echinata*, *C. gigas*, *Pinctada fucata*, and presumably other species of pearl oysters. Unpublished experimental evidence shows that *Crassostrea* eggs are still fertilizable after formation of the first polar body.

(3) The eggs are discharged at the first maturation metaphase. Examples: *Mytilus*, *Cumingia*, and probably the great majority of forms not mentioned above.

Although the eggs of marine invertebrate animals are diverse among species in the stage of nuclear maturation at the time of sperm entry, a great majority fall under above stated Class 3. It is a well-established belief that normal fertilization in any form requires a certain level of physiological maturation of the egg cortical layor.

Fol (1877, 1879) was probably the first to associate the maturation of the ovum with the breakdown of the germinal vesicle. Since then, a body of evidence which suggests a close association between the two phenomena has been accumulated, for instance, the classic experiments on *Cerebratulus* by Wilson (1903) and on *Asterias* by Delage (1901) and Chambers (1921).

Such evidence has built up an opinion that changes incurred in the egg cytoplasm through the admixture of nuclear material is prerequisite to fertilization. Thus, Lillie and Just (1929) state that substances from the germinal vesicle bring about a protoplasmic maturation that is necessary for fertilization. As to the case of *Nereis* eggs which are fertilizable only at the germinal vesicle stage, they claim that "it may be supposed that the substances necessary for such protoplasmic maturation diffuse through the wall of the germinal vesicle." It seems to me this view has been too much extraporated; there remains another and probably more appropriate interpretation.

It is a well-established fact that a sperm aster does not develop in the egg cytoplasm while the germinal vesicle is intact. Chambers and Chambers (1949), working on *Asterias* eggs, have demonstrated that the sperm aster never appears until after the second polar body has been given off. However, if we herewith confine the term "cortex maturation" and the like to denote a maturation of the egg cortex which is enough to permit sperm entry followed by normal development, at least in the eggs of certain forms of animals such as *C. echinata* and *P. fucata*, such cortex maturation is perfect even while the germinal vesicle is intact.

Facts along this line are most evidently presented by *Mactra* eggs. As far as the present writer's observations go, sperm entry has never been observed to occur in the eggs of *M. sulcataria* and *M. veneriformis* after the breakdown of

germinal vesicle, although it is still obscure whether this is due to an overripeness of the cortex or to some change incurred in the perivitelline layer. Moreover, as is stated in this paper, *P. fucata* eggs which have completed the nuclear breakdown are not always fertilizable.

These facts suggest that the cortex maturation can be completed more or less independently of the nuclear breakdown. On the other hand, the view that substances from the germinal vesicle are responsible for the cortex maturation will be met with some difficulties in explaining these facts.

Breakdown of the germinal vesicle is induced by external agent. Naturally these agents will first affect the cortical layer before they influence the nucleus. From his works on the *Chaetopterus* egg, GOLDSTEIN (1953) has proposed a hypothesis that, as soon as the egg enters sea water, a proteolytic enzyme system is activated by the entrance of calcium into the cell interior and this protease is responsible for the breakdown of germinal vesicle. HEILBRUNN and WILSON (1955) show that in *Chaetopterus* eggs after the entrance into sea water the protoplasm shows a liquefaction preceded by a very brief clotting reaction which occurs before the nucleus shows any signs of breaking down. They believe that both the gelation and the subsequent liquefaction can be caused by the calcium-activated protease described by GOLDSTEIN (1953).

In pearl oyster eggs, when they are exposed to ammoniacal sea water, the first visible change to occur before the nuclear breakdown is a rounding-up of the egg which has been more or less irregularly ovoid. This change in the shape is very probably due to a liquefaction of the cortex. According to WILSON and HEILBRUNN (1952), all agents which have been found to activate the *Chaetopterus* egg cause a liquefaction of the cortex. These findings provide another piece of evidence which will support the view proposed in the second last paragraph.

Although the external agents, as just stated, first affect the cortical layer, the same agents also induce the breakdown of germinal vesicle. In addition, in the eggs of *Pinctada maxima* and *Pteria penguin*, the cortex maturation becomes perfect concurrently with the nuclear breakdown. In *Mytilus* and others, the egg cortex does not become mature until after the dissolution of nucleus.

Judging from these facts, it may be permissible to state that the two pathways, one leading to the cortex maturation and the other to the nuclear breakdown, initially have some reaction or reactions in common.

While it is quite obscure what reactions cause the cortex maturation, it should be noted that ammonia, very probably owing to its high penetrating power, is strikingly efficacious in producing the maturation in pearl oyster eggs at such a low concentration as $0.4–0.5 \times 10^{-}$N.

Conclusion

The nuclear breakdown and the cortex maturation as indicated by fertilizability, though it appears they are closely associated, are not in a strict cause-and-

effect relation. Probably they are initiated with some reaction(s) in common, but it may be supposed that each has a divergent path in the later part.

References

Chambers, R., 1921 : Microdissection studies. III. Some problems in the maturation and fertilization of the echinoderm egg. Biol. Bull., **41**, 318–350.

Chambers, R., and E. L. Chambers, 1949 : Nuclear and cytoplasmic interrelations in the fertilization of the Asterias egg. Biol. Bull., **96**, 270–282.

Delage, Y., 1901 : Etudes experimentales sur la maturation cytoplasmique et sur la parthenogenese artificielle chez les echinodermes. Arch. de Zool. exp. et gen., 3e serie, **9**, 285–326.

Fol, H., 1877 : Sur le commencement de l'henogenie chez divers animaux. Arch. de Zool. exp. et gen., **6**, 145–169.

Fol, H., 1879 : Recherches sur la fecondation, et le commencement de l'henogenie chez divers animaux. Mem. Soc. Physique et Hist. nat. (Geneve), **26**, 89–397.

Heilbrunn, L. V., and W. L. Wilson, 1955 : Changes in the protoplasm during maturation. Biol. Bull., **109**, 271–275.

Goldstein, L., 1953 : A study of the mechanism of activation and nuclear breakdown in the Chaetopterus egg. Biol. Bull., **105**, 87–102.

Lillie, F. R., and E. E. Just, 1924 : Fertilization. (General Cytology, ed. E. V. Cowdry, Section VIII.) Chicago: University of Chicago Press.

Wada, S. K., 1941 : On the artificial fertilization and development of the silver-lip pearl oyster, Pinctada maxima (Jameson). Kagaku Nan'yo (Science in the South Seas), **4**, 202–208 (in Japanese).

Wada, S. K., 1947 : Artificial fertilization of the Japanese pearl oyster in ammoniacal sea water. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **13**, 59 (in Japanese).

Wada, S. K., 1953 : Biology of the silver-lip pearl oyster, Pinctada maxima (Jameson). 1. Artificial fertilization and development. Margarita (Tokyo), **1**, 3–15.

Wada, S. K., and R. Wada, 1953 : On a new pearl oyster from the Pacific coast of Japan, with special reference to the cross-fertilization with another pearl oyster, Pinctada martensii (Dunker). Jour. Oceanogr. Soc. Japan, **8**, 127–138.

Wilson, E. B., 1903 : Experiments on cleavage and localization in nemertean egg. Arch. f. Entw.-mech., **16**, 411–460.

Wilson, W. L., and L. V. Heilbrunn, 1952 : The protoplasmic cortex in relation to stimulation. Biol. Bull., **103**, 139–144.

Radiological Survey in the Indian Ocean in 1961*

Kaname Saitō

Abstract

Radioactivity of the sea water, plankton and fishes, obtained from the Indian Ocean in 1961 was inspected.

1) High radioactivity in the plankton was found in the area situated between about 4°N, 77°E and 4°S, 78°E. The half-life of radioactive elements in the plankton is about 15 days.
2) No radioactivity was detected from the sea water.
3) Radioactivity may be concentrated to liver, kidney and spleen in the fishes. The activity in muscles was very poor, though the red muscle held always higher activity than the ordinary muscle of the same fish. The correlation between the stomach contents and tissues in regard to strength of activity could not be made sure.

Introduction

The training ship "Kagoshima Maru" was sent out by the faculty of Fisheries of Kagoshima University, for the purpose of Tuna Long-line fishing tests

Fig. 1. The track of the Kagoshima Maru

⎓ : Course line ○ : Collecting stations of sea water and planktons ▨ : Fishing grounds

* Reprot of the Committee on the Radioactivity, Faculty of Fisheries of Kagoshima University-XIII

and scientific investigation in the Indian Ocean, dering the period from Oct. 1960 to Jan. 1961. The author was nominated as a member of the scientific corps of the expedition. The track of the "Kagoshima Maru" are shown in Fig. 1.

Radiological contamination of sea water, plankton and fishes obtained from the North Equatorial Current and the Kuroshio region, was already published[1]. In the present paper, the author dealt with the radioactivity on the materials, obtained from the Indian Ocean.

Measurement of radioactivity

It is very difficult to determine radioactivity precisely in any sample in its raw state due to so weak activity. For the more accurate measurement of activity, it is necessary to be conducted with ashed samples. Fishes were dissected carefully, and several tissues (liver, kidney, spleen, muscle etc) were obtained. These samples were weighed, dried on the hot-plate at 105°C. and ashed in a muffle furnace at about 550°C. Thus ashed samples were placed in a dish of stainless steel, each having a diameter of 2.5 cm. and an inside depth of 0.7 cm. The activity of samples was determined with Geiger-müller counter described below.

Geiger-müller counter
(made by Scientific Research Institute LTD, Japan, Model-100)
Thickness of Mica ····· 1.5mg/cm^2.
Diameter of Mica ····· 30mm.
Distance from the Sample to the Edge of G.M. Tube ····· 10mm.
Diameter of Dish ····· 25mm.
Geometry ····· 12.5%

Each $\mu\mu$c per minute was calculated from the count of 10 minutes measurement, subtracting the background of the same duration.

Results

Radioactivity in plankton

The plankton materials were collected through the Larva Net (calibre; 1.5 m) which was towed horizontally during about 15 minutes at a speed of 2 miles per 1 hour. Radioactivity of each ashed sample weighing 0.1 g. was measured on the stainless steel dish. Results obtained are shown in Table 1.

It should be noticed that high radioactivity in plankton was found in the area situated between about 4°N, 77°E and 4°S, 78°E. On the other hand, the activity in the plankton collected from other area was very poor. It was observed that the activity in the former was several times high so that in the latter. The reason of this distribution is not yet clarified.

The decay of radioactivity was examined for a sample showing comparatively high activity (No. 19), which was collected on Jan. 25. The result obtained

Table 1. Results of inspection on radioactivity of sea water and planktons.

Sample No.	Date of collection	Collecting station		Radioactivity	
		Lat.	Long.	Plankton μμc/100mg.*	Sea water** μμc/l.
1	Dec. 22	27°15′ N	34°37′ E	79.1	3.7
2	23	23°55′ N	36°57′ E	0.0	1.9
3	24	19°58′ N	39°37′ E	135.0	0.0
4	26	13°17′ N	42°57′ E	20.6	13.1
5	27	12°11′ N	48°30′ E	36.1	0.7
6	29	8°26′ N	55°50′ E	53.5	6.3
7	30	7°22′ N	57°40′ E	112.3	7.4
8	31	6°07′ N	61°16′ E	99.9	2.6
9	Jan. 1	5°07′ N	64°37′ E	262.6	3.0
10	3	4°32′ N	65°50′ E	210.1	0.0
11	6	3°17′ N	70°44′ E	580.9	0.0
12	8	7°46′ N	77°31′ E	140.1	0.0
13	9	7°39′ N	77°48′ E	103.1	1.3
14	10	7°26′ N	77°57′ E	143.2	3.4
15	12	7°40′ N	77°31′ E	120.6	0.0
16	20	4°52′ N	78°10′ E	422.3	0.0
17	22	1°00′ S	77°55′ E	226.6	0.0
18	24	4°06′ S	77°59′ E	533.5	4.4
19	25	4°32′ S	78°00′ E	704.5	16.9
20	26	3°05′ S	78°22′ E	412.0	1.5
21	28	1°40′ S	81°57′ E	211.1	0.0
22	29	4°32′ S	78°00′ E	163.8	0.0
23	30	2°42′ N	88°45′ E	166.9	0.0
24	31	4°54′ N	93°22′ E	142.1	8.3
25	Feb. 1	5°10′ N	97°32′ E	51.5	0.0
26	2	2°52′ N	100°57′ E	0.0	1.1
27	8	3°57′ N	112°27′ E	83.4	0.0
28	9	7°45′ N	115°30′ E	53.5	0.0
29	10	10°44′ N	118°08′ E	96.8	4.0
30	11	15°22′ N	119°27′ E	51.5	7.1
31	12	20°05′ N	120°50′ E	0.0	3.0

* Ashed matter ** Surface water

are shown in Fig. 2. The half-life of radioactive elements in the plankton is about 15 days. Classifying the contaminated plankton into each species, it was found that *Cavolinia* sp. showed high radioactivity of 824 μμc/0.1g., *Lepas* and *Phyllosoma* 103～206 μμc/0.1g., and Jelly-fish showed about 51.5μμc/0.1g.

Radioactivity in sea water (surface water)

It is difficult to measure the radioactivity in sea water directly by a simple evaporation method owing to its high salinity. Therefor, the carrier method[2] is adopted. Results obtained are shown in Table 1. According to this Table, no

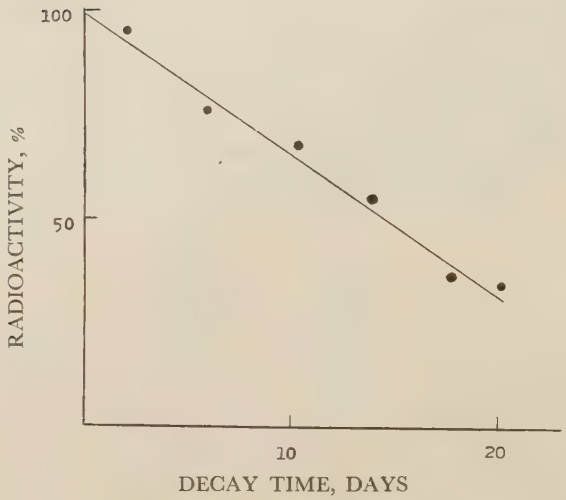


Fig. 2. Decaying state of radioactive elements in the plankton (sample No. 19)

radioactivity was detected from the sea water collected in the Indian Ocean. However, it must be remembered that there are some doubtful points about the absorptiveness of radioactive elements by the precipitans in this method. A precise research on the accuracy of the measuring method may be necessary.

Radioactivity in fishes

Several tissues in fourteen samples of fish caught from different fishing grounds (see Fig. 1), have been examined radiologically. Their morphological data as well as the name of fishes, localities and dates of eatch are summarized in Table 2. Radioactivity of each ashed sample weighing 0.5 g. was measured on the stainless steel dish. Results obtained are shown in Table 2.

It may be concluded that the most radioactive parts of these fish are the liver, kidney and spleen. The radioactivity in muscles was very poor, though the red muscle held always higher activity than the ordinary muscle of the same fish. It must be added that a fish which has a high potency of the activity in the dark muscle seems to indicatea high strength in the kidoney also.

Comparing the results reported in the previous paper[3], the conciderable high activity could not be detected in the samples collected in this expedition. The correlation between the stomach contents and tissues in regard to strength of radioactivity could not be made sure. In spite of the fact that the tissues was contaminated, the activity in the stomach contents was not detected. According to the earlier conception[4] on the radiological contamination of fish, ashes of fission products fell down into the sea, adhered to the planktons and came into fish bodies. However, radioactivity of the tissues may depend upon not only the food which has been already contaminated, probably upon other routes of contamination such as gill and body surface, through which radioactive elements may be introduced. Because marine fish are capable of keeping their osmotic

Table 2. Radioactivity detected in various tissues and organs of fishes.

Species	Sample No.	fishing station		Date of catch	Body length cm.	Body weight kg.	Sex	Radioactivity, $\mu\mu$c/500mg. (Ashed matter)								
		Lat.	Long.					Heart	Stomach	Stomach content	Intestine	Liver	Spleen	Kidney	Muscle	Dark muscle
Neothunus macropterus	1	14° N	65° E	Jan. 4	141	58.5	♀	12.3	32.9	21.6	37.0	105.6	138.0	273.1	5.1	80.3
	2	14° N	65° E	4	133	33.5	♂	30.9	40.1	0.0	16.4	123.7	250.2	248.2	23.6	37.0
	3	4° S	78° E	25	142	53.5	♂	0.0	17.5	30.9	0.0	53.5	110.2	85.4	31.9	49.4
	4	4° S	78° E	25	138	64.5	♀	0.0	0.0	0.0	35.0	220.4	83.4	200.8	44.2	63.8
Parathunus sibi	1	14° N	65° E	4	131	53.5	♂	20.6	2.0	0.0	47.3	260.5	429.5	154.5	0.0	53.5
	2	14° N	65° E	4	132	42.0	♂	0.0	23.6	21.6	0.0	234.8	107.1	261.6	11.3	93.7
	3	4° S	78° E	25	117	38.0	♂	16.4	0.0	24.7	13.3	136.9	150.3	184.3	26.7	70.0
	4	4° S	78° E	25	115	33.0	♂	0.0	0.0	18.5	22.6	209.0	264.7	207.0	0.0	78.2
Makaira mazara	1	14° N	65° E	4	223	177.0	♀	26.7	47.3	45.3	0.0	72.1	92.7	172.1	0.0	60.7
	2	14° N	65° E	4	183	91.0	♂	5.1	36.0	25.7	31.9	213.2	80.3	207.3	37.0	43.2
Istiophorus orientalis	1	14° N	65° E	5	198	49.5	♂	0.0	24.7	0.0	0.0	186.4	117.3	331.6	32.9	86.5
	2	14° N	65° E	5	175	42.0	♂	84.4	27.8	37.0	0.0	341.9	276.0	186.4	0.0	63.8
Makaira marlina	1	14° N	65° E	4	189	155.0	♀	35.0	25.7	0.0	40.1	135.9	179.2	250.2	42.2	94.7
	2	3° S	78° E	23	248	178.0	♀	29.8	0.0	15.4	20.6	109.1	156.5	172.2	4.1	39.1

independence against sea water surrounding their bodies.

Acknowledgment

The author wishes to express his thanks to Asst. professor T. Morita, the leader of scientific corps of this expedition, and the Captain S. Ueda and his crews of the "Kagoshima Maru", for their supports and useful help. The expenses of this investigation were defrayed partly by a research fund granted from the Ministry of Education.

Reference

1) Saitō. K and Sameshima, M. (1960) : Studies on the Radiological Contamination of Fishes, Sea Water and Planktons in the Westen Region of the North Equatorial Current during the Period from 1958 to 1959, *This Mem.*, **8**, 181～193. (in Japanese)
2) Miyake, Y., Sugiura, Y. and Kameta, K. (1954) : [On the Measurment of Radioactivity in the Sea Water], *Kagaku*, **24**, 601～605. (in Japanese)
3) Saitō, K. and Sameshima, M. (1956): Research in the Effects and Influences of the Nuclear Bomb Test, Vol **11**, pp. 872～882. Tokyo, Japan Society for the Promotion Science.
4) Koga, F, Hoshino, F. and Matsumoto, K. (1956) : Studies on the Radiologically Comtaminated Fish, *Shokuhin-eisei Kenkyu*, **5**, 45 (in Japanese)

1959年より1960年における鹿児島県南方海域の魚類，海水およびプランクトンの放射能汚染に関する研究*

鮫島宗雄・斎藤要

Studies on the Radiological Contamination of Fishes, Sea Water and plankton in the Southern Region of Kagoshima Prefecture during the Period from November 1959 to December 1960

Muneo Sameshima and Kaname Saitō

Abstruct

1) Inspection of radioactivity in the sea water, plankton and fish kidney, obtained from the southern region of Kagoshima prefecture, during the period from November 1959 to December 1960, was carried out.

2) The radioactive elements in the kidney were mainly composed of ^{113m}Cd (^{115m}Cd) and ^{65}Zn, similar to the results obtained in 1958 and the former term of 1959.

3) The most radioactive kidney in this term was the one taken from *Neothunnus albacora* on November 6, 1959, and quantity of main radioactive nuclides in this sample was calculated as 14.3 mμc of ^{113m}Cd (^{115m}Cd) and 2.3 mμc of ^{65}Zn per 100g. of fresh matter.

4) Generally speaking, the radioactivity in fish kidney showed a yearly decrease, and there were some differences in the rate of decrease in different species of fishes.

5) The radiological contamination of sea water and plankton collected in the region from 126°E to 127°E and 2°N to 22°N was not recognized in June 1960.

緒　　言

著者等は太平洋に於て最初の水爆実験が行われた1954以来，魚類の放射能汚染状況並びにその放射性元素につき調査研究を続けてきた．[1)2)3)]

太平洋におけるこの種の実験は1958年秋以来中止されているが、現在もなおそれに由来する人工放射能がマグロ，カジキ類の組織から検出され，その影響が極めて大きかったことを示している．一方原子力の平和利用にも廃棄物処理という困難な問題があり，改善すべき点が多く残されている．廃棄物処理の現状は一般に安易な海洋への投棄が多く，その影響について国際的な討議もしばしば行われている．安全について確実性の証明されないままに海洋への廃棄が継続されることは，主要タンパク質源を魚類に求める我が国にとり影響は甚大である．従って海洋および海産生物に対する放射性物質の転移を調査研究することは，廃棄物の処理法の改善を促す資料としても意義あるものと考える．

本報では，1959年11月より1960年12月に至る間，鹿児島県南方の黒潮流域にて漁獲されたマグロ，カジキ類の放射能汚染状況と，その核種並びに黒潮南域とその源流である北赤道海

* 鹿児島大学水産学部放射能研究委員会報告・第 XIII 報

流域における海水とプランクトンの放射能汚染等に関する結果を述べ，あわせてこれらと前報[2),3)]の結果より最近における魚類組織内の放射性元素の核種とその量的変化について考察した．

実 験 の 部

試 料

試料は1959年11月から翌1960年12月までの間に鹿児島市中央市場に水揚げされたマグロ，カジキ類の腎臓である．これら大型魚の漁獲海域は Fig. 1 に示した範囲で，1954年度以降放射能汚染魚が最も多く漁獲され，これまで調査の対象として来た海域である．魚種は，

バショウカジキ *Istiophorus orientalis* (Cuvier & Valenciennes),
マカジキ *Makaira mitsukurii* (Jordan & Snyder),
クロカワカジキ *Makaira mazara* (Jordan & Snyder),
メカジキ *Xiphias gladius* (Linné),
クロマグロ *Thunnus thynnus* (Linné),
キワダマグロ *Neothunnus albacora* (Lowe),
メバチ *Parathunnus sibi* (Temminck & Schlegel)

であり，主として腎臓を試料とした理由は，これが過去数年間にわたり最も汚染の著しい臓

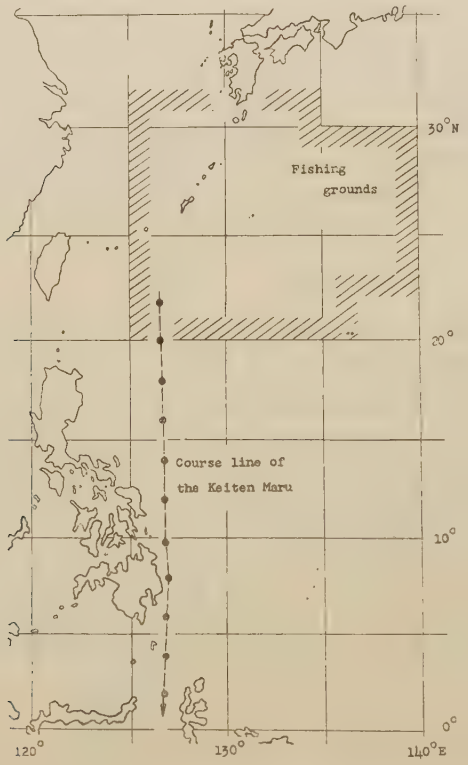


Fig. 1 Fishing grounds and collecting stations of sea water and plankton.

器の一つであり，市場での採集が比較的容易であることによる．バショウカジキの一部については同一個体のその他の臓器についても実験を行った．

海水及びプランクトンは，本学練習船敬天丸（295.09 t）によって1960年6月に採集されたものであり，その位置は Fig. 1 に併記した各点である．プランクトンの採集は，口経1.5 mの稚魚ネットを時速2マイルで15分曳航したものであり，海水は表層水である．

実験方法

試料の調製：腎臓はルツボに入れて乾燥後約600°C の電気炉で灰化し，灰分 100mg をステンレス製試料皿に秤取し測定に供した．

海水は 1ℓについて，鉄明ばん—塩化バリウム沈澱法[4] によって得た沈澱をステンレス製試料皿にとり，測定を行った．

プランクトンは海水と水道水で数回洗滌し，乾燥後ルツボにとり以下腎臓の場合と同様に灰化後供試した．

イオン交換樹脂による放射性元素の分離：試料灰化物を0.2M塩酸溶液とし，HR型とした陽イオン交換樹脂 Amberlite CG-120（10φ×400mm）に吸着させた後，木村等の方法[5] に従い0.2M塩酸，0.5%蓚酸，5%クエン酸アンモニウム（pH 3.0, 3.5, 4.1, 4.6, 5.1）の各溶液で順次溶離を行い，溶離液を濃縮灰化してその灰化物の放射能を測定した．

放射能強度の測定装置と表示法：測定は科研製100型カウンター（GM管，理研B 2 N型，マイカ窓の厚さ 1.4mg/cm²）により，距離1.5cm で行った．放射能強度は試料灰分100mg当りの $\mu\mu$c で表わし，核種推定の出来たものの一部については生鮮物 100g の mμc 数に換算し表示した．

実験結果及び考察

魚類腎臓の放射能強度

1959年11月から1960年12月にわたる間に，鹿児島市中央市場に水揚げされたマグロ，カジキ類の腎臓を随時採取し，その放射能強度を測定した結果は Table 1 の通りである．この表示は魚種別，水揚げ日順に行ったが，全体的にみて 200$\mu\mu$c 以下のものが大多数を占めていた．また1958年以降たどって来た汚染度減少の傾向は1960年に至って極めて緩慢となり，本表の範囲では時期的にもほとんど変化のない状態が続いている．最高測定値は59年11月6日水揚げのキワダマグロで 1308$\mu\mu$c であり，従来も時折りこのような例外的に強く汚染された魚が検出された．

魚種別にみた汚染度の差異は供試例数の差等から確言することは困難であるにしても，現在ではバショウカジキの汚染減少は著しく，またカジキ類よりマグロ類特にキワダマグロの汚染度が幾分高いように見受けられる．いま1958年9月から翌年8月までの12ケ月間と，Table 1 にかかげた14ケ月間の2期間について，平均汚染度と供試例数を魚種別に示すと，キワダマグロ 322$\mu\mu$c/20例，149/23；クロマグロ 366/8，124/8；バショウカジキ 527/39，69/23；マカジキ 148/18，40/11；クロカワカジキ81/9，77/13の如くである．年々減少する汚染度に魚種別の差があることは，1954年以降の測定値[2] と併せて考察すれば一層明確である．

Table 1 Radioactivity in kidney of fishes caught at the southern sea region of Kagoshima Prefecture.

Date of landing	Date of counting	Radioactivity in μμc
Istiophorus orientalis		
1956		
Nov. 2	Nov. 4	165
4	8	50
16	18	41
		78
22	25	0
1960		
May 24	26	67
31	Jun. 1	64
		59
Jul. 6	Jul. 7	154
Sep. 6	Sep. 7	33
8	9	89
		216
		33
		10
		108
14	15	8
		28
17	19	27
		39
		75
		87
		87
Oct. 30	Oct. 31	56
Neothunnus albacora		
1959		
Nov. 6	Nov. 6	1,308*
		165
Dec. 16	Dec. 18	103
		103
1960		
Feb. 22	Feb. 25	82
		111
		111
Apr. 24	Apr. 30	12
		127
May 18	May 20	321*
24	26	44
		37
Jun. 8	Jun. 9	116
18	19	161
Jul. 6	Jul. 7	190
		248
Sep. 14	Sep. 15	323
		114
		472*
Sep. 17	Sep. 19	114
		216
Oct. 24	Oct. 26	12
29	30	111
Makaira mitsukurii		
1959		
Nov. 6	Nov. 6	0
Dec. 4	Dec. 8	41
16	18	29
1960		
Feb. 29	Mar. 1	46
Mar. 10	12	0
May. 11	May 13	16
		120
18	20	112
31	Jun. 1	11
Sep. 14	Sep. 15	52
Oct. 24	Oct. 26	16
Makaira mazara		
1959		
Nov. 10	Nov. 25	0
Dec. 16	Dec. 18	0
1960		
Feb. 29	Mar. 1	32
		70
May 11	May 13	87
		152
18	20	12
23	24	143
Jun. 18	Jun. 19	126
Sep. 8	Sep. 9	206
14	15	169
Oct. 29	Oct. 30	0
Nov. 17	Nov. 19	0
Thunnus thynnus		
1960		
May 11	May 13	123
18	20	45
23	24	83
31	Jun. 1	60
Jun. 18	19	333
Jul. 6	Jul. 7	62
Nov. 17	Nov. 19	110
		175
Xiphias gradius		
1960		
May 23	May 24	135
Jun. 8	Jun. 9	147
Parathunnus sibi		
1960		
Nov. 27	Dec. 2	206
		185
Dec. 4	8	21
		256

The μμc was estimated and expressed for 100mg. of the ash.

* : Samples for Fig. 2.

Table 2 Radioactivity in various tissues of *Istiophorus orientalis*. (Jun. 19, 1960)

Tissue	Radioactivity in μμc		
	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Spleen	206	175	226
Kidney	75	87	87*
Liver	72	92	60
Gall bladder	6	37	45
Intestines	5	4	8
Muscle	5	0	3

The μμc was estimated and expressed for 100mg. of the ash.

* : Sample for Fig. 2.

その他の臓器の放射能汚染度

腎臓以外の臓器については，大型魚の内臓が鮮度保持の必要から漁船上で除去されるため入手が困難であり，多くの実験例を示すことが出来なかった．Table 2 は鹿児島湾内で漁獲されたバショウカジキ3尾より得た結果である．臓器別に汚染度の比較を行うと3個体とも同様な傾向で，いづれも脾臓が最高値を示し腎臓，肝臓の2倍以上であった．しかし筋肉，腸管からはこの実験条件下ではほとんど放射能を検出し得なかった．

汚染臓器の放射性元素

汚染魚の臓器に含まれる放射性元素の種類を検討するため，陽イオン交換樹脂による溶離分析を行った．代表的な4例を Fig. 2 に示すが，その他の試料についてもほとんどこれと同型の結果を得ている．

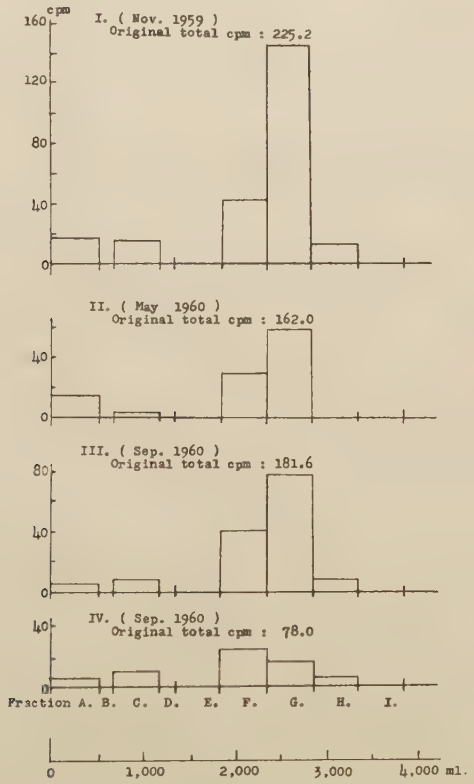


Fig. 2　Fractionation of radioactive materials in kidney of *Neothunnus albacora* (Sample I, II and III) and spleen of *Istiophorus orientalis* (Sample IV) by an ion exchnger column.

Resin　: Amberlite GG-120
Column　: 10ϕ × 400mm.
Velocity : 0.5ml./min.
Fraction A : 0.2M HCI. B and D : Water, C : 0.3% (w/v) oxalic acid, E-I : 5% (w/v) ammonium citrate (E : pH 3.0, F : pH 3.5, G : pH 4.1, H : pH 4.6, I : pH 5.1)

放射能強度の強い溶離区分は，4例とも pH 3.5 及び 4.1 のクエン酸アンモニウム区分である．この2区分をさらに検討するため，Sample 1 について常法による陽イオンの分属，半減期の測定等を行った．分属の結果は Table 3 のごとく，pH 3.5 区分は Zn，pH4.1 区分は Cd の位置に高い放射能を検出し，この両区分の半減期は Fig. 3 のごとくそれぞれ250～300 日，約5年と計算される．また別にアルミニウム吸収板による β 線の最大エネルギー

Table 3 Group separation of radioactive elments in kidney of *Neothunnus albacora*. (Nov. 1959)

	Original total cpm	Radioactivity in cpm								
		I	II					III		IV	V
			Hg frac.	Pb frac.	Bi frac.	Cd frac.	Sn frac.	Fe frac.	Zn frac.		
Elute F	42.5	3.5	10.5					4.2	21.6	0.0	1.8
Elute G	145.1	0.8	0.0	0.0	7.6	97.7	0.0	14.1		0.0	3.2

Elute F and G are same fractions respectively showed in Fig. 1.

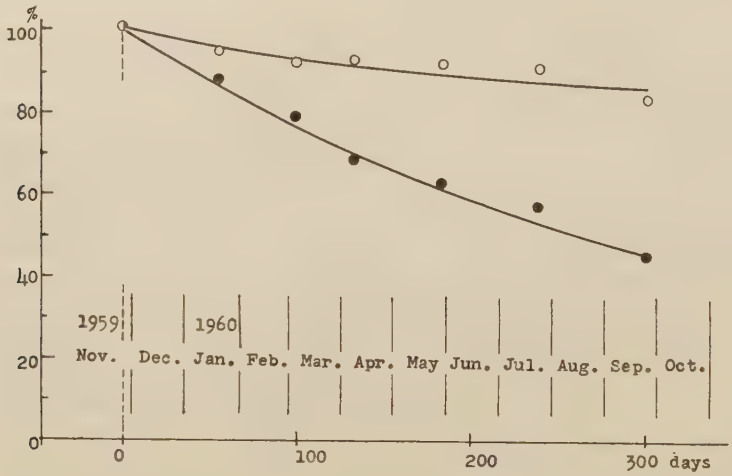


Fig. 3 Decay curve of radioactive Cd and Zn fractions separated from kidney of *Neothunnus albacora*.

○ : Cd fraction in Table 3. ● : Zn fraction in Table3.

測定を試みたが，両区分とも放射能強度低く確認は困難であった．しかし0.5～0.6 MeV のエネルギーを持つことがうかがわれた．以上の結果は前報[3] にて確認された結果，すなわち pH 3.5 区分は ^{65}Zn，pH 4.1 区分は ^{113m}Cd（または ^{115m}Cd）とよく一致している．従って本報における試料に含まれる放射性元素もこれと同様の核種であろう．其の他の塩酸，蓚酸等の溶離区分については，いずれも放射能強度が低いため核種に対する実験を行い得なかった．

この汚染腎臓に含まれる程度の放射性元素量を最大許容量の面からみると，100g 程度を摂取しても国際放射線防護委員会の勧告値[6] をはるかに下まわり，可食部である筋肉はさらに含量が低く全く問題とはならない．

1958年～59年前半においては，魚類腎臓の放射性元素は全般的にその量を減じつつも，含まれる核種は Cd の占める割合が高く，しかもその割合は次第に大きくなる傾向があった．1958年11月水揚げのバショウカジキには，生試料 100g 当り 0.094μc の ^{113m}Cd と 0.006μc の ^{65}Zn を含むものがあった．Fig. 2 の I の放射性 Cd と Zn は 14.3mμc と 2.3mμc，同じく II は 2.3mμc と 0.6mμc であり，Cd の割合が高くなる傾向は1960年の試料にはあてはめることが出来ず，バショウカジキ脾臓の例（Fig. 2 IV）のごとく Zn の区分の方が高い放射能を示すものもあった．

^{65}Zn の半減期は250日で ^{113m}Cd の5.1年より短かいにもかかわらず，その比が増していることは生物学的半減期だけで説明することは困難で，最近海洋の放射能汚染問題をとり上げるときしばしば聞く "hot spot"[7][8] があるとすれば，魚類は新たに放射性物質を摂取している可能性もある．放射性元素の減少傾向に魚種別の差異が認められる．^{90}Sr 等は魚種別，生態別に消長がある事実もあり[7]，マグロ，カジキ類以外の魚種を試料とすれば，さらに興味ある現象を発見し得るかもしれない．

海水及びプランクトンの放射能汚染

採集点である，東経126°，北緯2°～22°の海域は，黒潮の源流として鹿児島市に水揚げされる大型魚の漁場とは密接な関係があり，この海域の放射能汚染を追求することは，汚染魚類とその環境を知る上に意義のあることと思う。

試料の海水及びプランクトンは採集後約2ケ月を経て実験室にて分析したのであるが，この実験の範囲では，全試料とも放射能を検出することが出来なかった．

Table 4　Radioactivity of sea water and plankton.
(Date of counting : Aug. 4 to 10)

Date of collection	Collecting station Lat.	Long.	Radioactivity Sea water $\mu\mu$c/l.	Plankton $\mu\mu$c/100mg. of ash
1960				
Jun. 1	22°00′N	127°37′E	0	28
2	20°00′N	126°39′E	0	0
2	18°00′N	126°40′E	0	0
3	16°00′N	126°42′E	4.5	30
3	14°00′N	126°45′E	0.7	0
4	12°04′N	126°44′E	2.2	0
4	9°57′N	126°43′E	3.0	11
5	8°00′N	126°50′E	0	5
5	6°00′N	126°35′E	0	26
6	4°00′N	126°29′E	3.7	0
7	2°00′N	126°33′E	0.7	0

放射性物質がビキニ近海から海流に乗り日本近海に接近するまでの距離は約4000浬で，時間的には約11ケ月を要するといわれ，堀等も1959年秋以降日本近海における黒潮の表層水には極めて低い放射能しか検出されず，かつ値も一定であると報じている[9]．

要　　約

1)　1959年11月から1960年12月までの間に，鹿児島県南方海域で漁獲されたマグロ，カジキ類の腎臓からは，0～1,308$\mu\mu$c／灰分100mg の人工放射能が検出された．最高の汚染度

を示した試料は，1959年11月6日水揚げのキワダマグロで，放射性元素は主として ^{113}Cd (^{115m}Cd) と ^{65}Zn とより成り，その量は生試料 100g 当りそれぞれ 14.3mμc，2.3mμc であった．

2) この期間に供試された魚類腎臓の放射能汚染状況には次のような傾向のあることを知った．

キワダマグロ，クロマグロはバショウカジキ，マカジキ等より強く汚染されており，全体的に見ると汚染は1954年当時からしだいに減少しつつも，その速度には魚種による差異が認められた．

腎臓に含まれる放射性元素は，1958年までは Cd の占める割合が次第に高くなる傾向があった．しかし1960年には Cd 依然として主要成分であるとしても，Zn の割合も少なくないことがわかった．

3) 1960年6月に，黒潮南域とその源流である西部北赤道海流域の海水及びプランクトンを採集し，その放射能汚染状況を調査したが，確認し得る程度の放射性元素を検出することは出来なかった．

終りに本研究に対し御指導を賜った三重県立大学水産学部岡田彌一郎教授と，御協力を賜った本学練習船敬天丸の乗組員各位に謝意を表する．なお本研究は文部省科学研究費（総合）により行われたものである．

文　　献

1) 盛田友弌・斎藤　要・源河朝之 (1955)：赤道海域及びコラル海における放射能の検索について，鹿児島大学水産学部紀要，**4**，151～156.
2) 斎藤　要・鮫島宗雄 (1955)：放射能汚染魚に関する研究，鹿児島大学水産学部紀要，**4**，124～142.
3) 斎藤　要・鮫島宗雄・辺見富雄 (1960)：1958年より1959年における西部北赤道海流域の海水プランクトン及び魚類の放射能汚染に関する研究，鹿児島大学水産学部紀要，**8**，181～193.
4) 三宅泰雄・杉本吉雄・亀田和久 (1954)：ビキニ海域における人工放射能の分布とその海洋学的考察，科学，**24**，601～639.
5) 木村健二郎他16 (1954)：第五福竜丸に降った放射性物質について，分析化学，**3**，335～348.
6) 日本放射性同位元素協会 (1959)：ラジオアイソトープ講義と実習，丸善，305，620～623.
7) 科学朝日 (1961)：太平洋の底に死の海流，海中に捨てられる放射能，No. 5，39～45.
8) Saitō, K. (1961)：Radiological Survey in the Indian Ocean in 1961, Memoirs of the Faculty of Fisheries Kagoshima University, **10**, 9～14.
9) 堀　定清・日向野良治・長屋　裕・塩崎　愈・背戸義郎 (1960)：日本近海における表層海水の放射能について，第2回放射能調査研究成果発表会論文抄録集，53～54.

細菌プロティナーゼによる魚肉アクトミオシンの分解と凝固について*

日　高　富　男

On the Proteolysis and Coagulation of Actomyosin Fraction of Fish Muscle by Action of Bacterial Proteinase

Tomio Hidaka

Abstract

The auther studied on the enzymic action of alkaline proteinase produced by *Bacillus subtilis* upon proteins of fish muscle. The results are as follows.

1) As to the enzymatic proteolysis of fish meat by the bacterial proteinase, actomyosin fraction was hydrolyzed more readily than water extract fraction of fish muscle.

The products formed by action of the bacterial proteinase upon actomyosin were mainly various polypeptides, but small amounts of amino acids were also formed.

2) It was found that actomyosin was at one time hydrolyzed and coagulated by action of the bacterial proteinase. The optimum pH of the proteolytic activity lay at 9.2, and its optimum temperature was 60°C. The most powerful coagulation was shown at pH 8.0 and 40°C.

3) The actomyosin coagulated by action of the bacterial proteinase was changed into an insoluble form in neutral salts solution, and was hard to be hydrolyzed in contrast to raw actomyosin.

4) From these results, it was considered that the bacterial proteinase have effect on post-mortem hydrolysis and denaturation of fish meat.

一般に動物生体といえども，その体表ないし外境と直通する各器官には多数の細菌が常在しており，特に魚体にあってはその環境上細菌の附着が多く[1]，そのうえ漁獲後における細菌汚染の機会も多い．よってそれらの細菌が魚類の死後容易に筋肉内に侵入して肉質変化に関与することは必然的結果であり，この点魚肉は獣肉に比して腐敗の進行速度が速いとされる所以の一つである．したがって魚肉の場合死後かなり早い時期から細菌の作用によるタンパク質の変質を考えねばならない。

従来，魚肉変質過程における細菌の作用については，腐敗生産物ともいうべき細菌による分解産物の研究が多いが，肉質の変敗初期，筋肉タンパク質のごとき生タンペクに対する細菌体ないし細菌酵素の作用についての詳細な研究は多くを知らない[2),3)]．

本報においては魚体に接触の機会多い細菌のうちタンパク分解力の強い菌を選び，魚肉生タンパクに対する作用を検討したところ，供試細菌酵素は魚肉生タンパクにも作用してこれを分解するが，魚肉構成タンパク質の各区分はそれぞれ異る分解度を示した．しかも魚肉アクトミオシンでは分解すると同時に凝固析出する現象を伴うことが知られたのでこの知見を報告する．

---

* 本報告の一部は昭和34年4月，水産学会年会において発表した。

実 験 方 法

酵素作用測定法

1. 基質の調製 通常，プロティナーゼ活性度測定の基質として用いられるカゼイン (0.6%)，尿素変性ヘモグロビン (0.6%)，ゼラチン (6.0%) は常法[4] に従って調製した．

生タンパク基質としての魚肉アクトミオシンはマサバ，マアジまたはコイ等の新鮮肉を冷却細切し，あらかじめ冷した Weber-Edsall 液5倍量で冷所時々攪拌しながら24時間抽出した後（この抽出液が後述の W-E 液抽出液），常法[5]に従って精製し，所定タンパク質濃度に調整して実験に供した．このアクトミオシン液は 0～5°C に保存し，調製後2～3日以内のものを使用した．

その他，生タンパク基質として生魚肉，魚肉ストローマをも用いたが，基質に用いたタンパク質のうち難溶性のものはこれに可溶性プロティナーゼを作用させる場合，酵素と基質との接触面が問題であり，再現性および比較の点で困難がある．本実験ではそのような場合，基質タンパクをホモゲナイザー等の力をかり，可及的分散状態にし，かつ所定タンパク質濃度に稀釈して用いた．

2. タンパク分解度の測定法

i. 反応 タンパク質濃度，pH を調整した基質溶液 5ml（または基質液 2.5ml＋緩衝液 2.5ml）に酵素液 1ml を加え，30°C で所定時間反応後，除タンパク試薬（0.44M 三塩化酢酸液：反応液に所定通り加うれば終濃度 0.2M となる）5ml を加え反応を中止する．

ii. 測定 反応中止後 30°C 水槽中に約30分間放置し，沈澱の生成を完結させ，次いで遠沈し上清と沈澱とに分別する．上清液 0.5ml について銅フォーリン法[6]（チロジン相当量 mg%），上清液 5.0ml をとりフォルモール滴定法[7]（アミノ酸態窒素 mg%），上清液0.5ml をとりニンヒドリン呈色法[8]（ロイシン相当量 mg%）等により上清液0.2M 三塩化酢酸可溶性物中の各該当物質量を定量し，その濃度から対照値を差引いた値で分解作用の活性度を表示した．

3. タンパク凝固度の測定法

i. 反応 さきに分解度を測定した反応混液の2倍の規模で反応させた．

ii. 測定 所定時間反応後恒温槽よりとり出し，

a）反応液 5ml を沈澱管にとる．

b）反応液残部を3000 rpm，5分間遠沈して，その上液 5ml を沈澱管にとる．

a），b）同時に除タンパク試薬（0.4M 三塩化酢酸液）5ml を添加し反応を停止する．反応停止後 30°C 水槽中に約30分間放置し，沈澱生成を完結させてから遠沈し，上清液は傾斜し去る．沈澱は数回洗浄後 0.1N NaOH で5ml に溶かしビューレット呈色法[9]でタンパク態窒素量 mg % を定量した．今 a），b）の測定値をそれぞれ a，b，及びその対照実験値を a′b′とすれば，反応中のタンパク凝固量は次のごとく算出した．

a′－a＝A（タンパク分解量）

b′－b＝B（タンパク分解量＋タンパク凝固量）

B －A＝タンパク凝固量

本報でタンパク凝固とは反応中に凝集して 3000 rpm，5分間の遠沈で沈降する状態になったものを指すことになる．

4. ゼラチン粘度降下度の測定法 6%ゼラチン液 10ml に酵素液 2ml を加え，40°C で所定時間反応後，100°C で10分間加熱して反応を停止する．この反応液 10ml をオストワールド粘度計（No. 2）にとり，40°C 恒温水槽中で相対粘度（η/η_0）を測定した．

以上の各種活性度測定法の対照試験は，酵素液をあらかじめ100 °C に10分間加熱して活性を止めたものを用いて各測定法を実施し，その測定値を対照値とした．

実 験 結 果

1. 供試菌の性状

本実験に供した細菌は，海水，魚体，魚舶から分離した 100 余株の菌からゼラチン液化性菌のみを選択し，更に実験目的に応じこれらよりゼラチン粘度降下作用，カゼイン分解作用の強い数株を選んだ．該当する菌はほとんど中温好気性芽胞菌であり，その粗酵素液のカゼインに対する分解作用から，中性ないし塩基性プロティナーゼ活性の強い菌であった．そのうちの代表菌 1 株について今後の実験を行ったが，この菌株の菌学的性質の概要は Table 1 のごとくであって，Bergey [10] の分類に従えば *Bacillus subtilis* に類縁する一変株と認められた．

Table 1. Physiological and morphological characteristics of the tested organism.

Vegetative cells : Rods, 0.8 to 1.0 by 2.0 to 3.5 microns, with poorly rounded ends. Usually single sometimes in pair. Actively motile with peritrichous flagella. Stain uniformly. Gram-variable. On glucose agar, rods are usually larger.

Spores : 0.7 to 0.9 by 1.2 to 1.8 microns, ellipsoidal, thin-walled, central to para-central. Many formed in 48 hours at 32°C.

Sporangia : Ellipsoidal, not distinctly swollen, frequently show bipolar staining.

Gelatin stab : Liquefaction crateriform to stratiform.

Gelatin agar streak plate : Wide zone of hydrolysis.

Agar colonies : Irregular, spreading, rough, opaque, dull, off-white to creamy white.

Agar slants : Growth abundant, spreading, rough, wrinkled, opaque, dull, butyricus to brittle, cream-colored to light brown.

Glucose agar slants : Growth usually more abundant than on agar, yellowish brown.

Soybean agar slants : Growth usually more abundant than on agar,

Broth : Clear with heavy, wrinkled pellicle.

NaCl broth : Poorly growth in 7 per cent NaCl.

Milk : Peptonized.

Potato : Growth heavy, wrinkled to coarsely folded, spreading. Offwhite, yellow or brown.

Indole usually not produced.

Slight acid but no gas (with peptone as sourse of nitrogen) from glucose, xylose.

Starch is hydrolyzed.

Acetylmethylcarbinol not produced.

Nitrites produced from nitrates. No gas produced from nitrate broth nuder anaerobic conditions.

Catalase produced.

Urease not produced.

Aerobic. Growth scant, if any, in glucose broth under anaerobic conditions. pH of 7-days cultures is 7.5 to 8.5.

Temperature relations : Optimum growth temperatures lie between 28° and 40°C. The maximum temperature for growth is usually 50°C.

Source : Isolated from fish.

2. 細菌酵素液のタンパク分解作用

供試菌を肉汁培地またはペプトン・デキストリン培地（0.5％ペプトン液にデキストリン3.5%，$(NH_4)_3PO_4$ 1.0%，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 及び KCl 各々 0.02%）――両者の間で酵素生成能に大差はなかった――に5～7日間静置培養した培養液を遠心分離，または沪過助剤としてセライトを用いて沪過し，それらの上澄液あるいは沪液を供試粗酵素液とした．

まず粗酵素液をカゼイン，ヘモグロビン，牛乳，生魚肉，魚肉アクトミオシン（それぞれのタンパク態窒素濃度100～110 mg%）に pH 8.0，30°C で作用させ，その分解度合を経時的に銅フォーリン法で測定し分解度を比較した．ゼラチンについては粘度降下度を測定した．それらの結果は Fig. 1 のごとくであった．

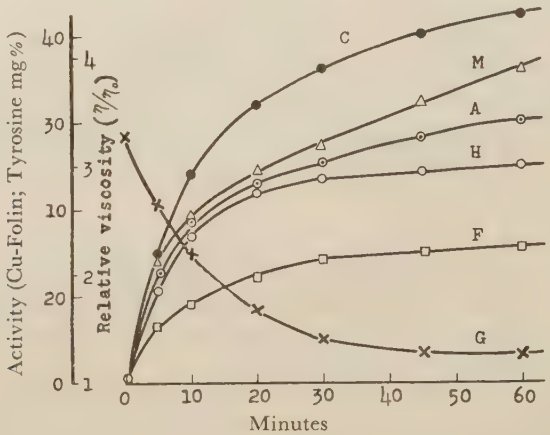


Fig. 1. Proteolytic activity of the crude enzyme solution upon several proteins.
Proteins used as substrate (Protein-N 100～110 mg%): C; casein, M; milk, H; hemoglobin, G; gelatin F; fish meat, A; actomyosin of mackerel muscle
The activity measured at pH 8.0 and 30°C.

すなわち生魚肉＜ヘモグロビン＜魚肉アクトミオシン＜牛乳＜カゼインの順で分解度は高い．牛乳はカゼインと同じ程度に分解され，アクトミオシンは通常タンパク分解の基質として用いられるヘモグロビンよりも容易に分解された．生魚肉そのままは同じ魚肉から抽出したアクトミオシンよりも分解度は低い．またゼラチンの粘度降下も著しいなどの結果であった．いずれも反応初期15分位までに急速に分解され，その後は徐々に反応が進み，この条件で60分以後はほとんどが停着状態になった．この際，生タンパク基質である生魚肉，アクトミオシンがこの種 proteolytic action によって予想以上に分解され易い事が知られた．

このほか，アクトミオシンと牛乳を基質とした場合に，反応進行中基質タンパクが凝固析出する現象が肉眼的に観察された．

次に粗酵素液をサバ肉アクトミオシン液（タンパク態窒素濃度 100 mg%）に所定条件で5，10，15，30，45，60分間反応させ，反応後生じた0.2M三塩化酢酸可溶性物質を銅フォーリン法，フォルモール法，ニンヒドリン呈色法でそれぞれ測定し，また三塩化酢酸沈澱物については未分解タンパク量をビューレット法で定量し，分解タンパク量を算出，更にアクトミオシンの粘度変化は所定反応後の反応液10ml をオストワールド粘度計（No. 2）にとり，

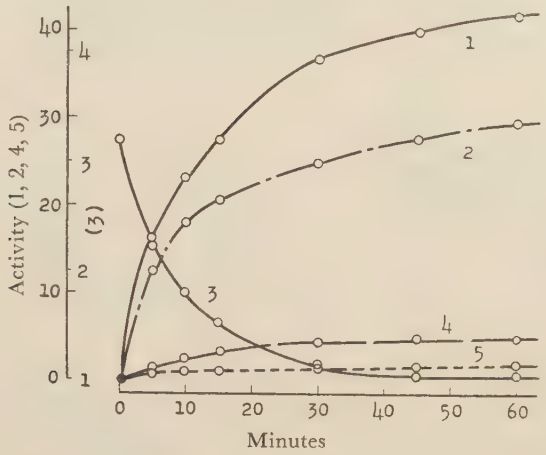


Fig. 2. Proteolytic activities of the crude enzyme solution upon actomyosin
Actomyosin isolated from mackerel muscle (Protein-N 100mg%).
The activity measured at pH 8.0 and 30°C.
1 : Biuret colorimetry (Protein-N mg%)
2 : Cu-Folin colorimetry (Tyrosine mg%)
3 : Relative viscosity (η/η_0)
4 : Formol titration (Amino acid-N mg%)
5 : Ninhydrin colorimetry (Leusine mg%)

30°Cで測定した．それらの結果を Fig. 2 に示した．この結果分解タンパク量(1)は作用時間15分位までに急増し，その以後は緩慢な増加をたどって60分後には基質タンパクの40%位が分解されることが知られた．銅フォーリン呈色物質(2)もこれに似た傾向で増加した．これに対しフォルモール法(4)，ニンヒドリン呈色法(5)で測定される遊離アミノ酸の増加は少く，供試酵素液はタンパク質を 0.2M 三塩化酢酸可溶性にする程度の分解であって，それ以上低分子までには分解されない．すなわち非タンパク性物質の生成量は大きいが，ペプチッド結合の開裂は少いことが明らかである．次にアクトミオシン液は高い粘度をもち，このような溶液中のタンパク質粒子の分散状態に変化が起ると当然液の内部摩擦にも影響し粘度変化を伴うので，粘度変化はアクトミオシンの性状変化を知る一つの観点とされているので，本実験においても反応液の粘度を測定した結果(3)，反応の進行に伴い著しい粘度低下がみられた．

3. 細菌酵素液によるタンパク質の分解と凝固

さきの実験で供試酵素液によりアクトミオシン，牛乳がかなり高い分解度を示し，同時に基質タンパクが凝固析出する現象がみられたので，アクトミオシン，カゼイン，牛乳に対する分解と凝固の反応経時的変化を定量的に測定した結果を Fig. 3 に示した．またサバ肉構成タンパクを水抽出区分，Weber-Edsall 液抽出区分，アクトミオシンの3区に分け，それぞれのタンパク態窒素濃度 115mg%，KCl 濃度 0.6M に調整して各区分の供試酵素液による分解量と凝固量を測定した結果は Fig. 4 に示すごとくであった．

Fig. 3 の結果ではアクトミオシン，牛乳，カゼインの順に分解度が大きく，30分間の作用でそれぞれ基質タンパク量の37%，42%，50%が分解されたが，凝固度は牛乳では基質タンパク量の32%，アクトミオシンでは20%で，カゼインはほとんど凝固しなかった．そしてこ

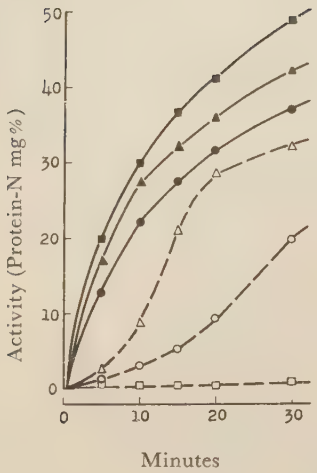


Fig. 3. Proteolytic activity and coagulating power of the crude enzyme solution upon casein, milk and actomyosin.
Concentration of each proteins as substrate was 100 mg% Protein-N.
The activity measured at pH 8.0 and 30°C.
——: Proteolytic activity
……: Coagulating power
●○: Actmyosin of mackerel muscle
▲△: Milk
■□: Casein

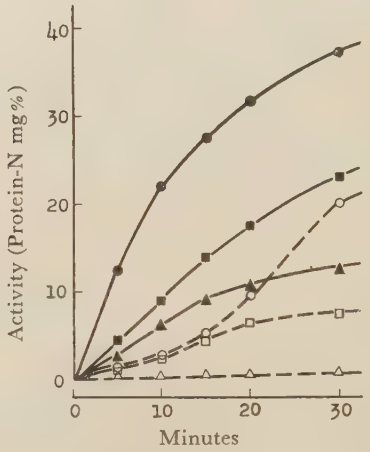


Fig. 4. Proteolytic activity and coagulating power of the crude enzyme solution upon several protein fractions isolated from mackerel muscle.

(Protein-N 115mg%, pH 8.0, 30°C.)
——: Proteolytic activity
……: Coagulating power
●○: Actomyosin
■□: Weber-Edsall soln. ext. fraction
▲△: Water ext. fraction

れら曲線によれば，アクトミオシンの分解量と凝固量との経時的変化曲線に多少の時間的づれが認められ，つまり供試酵素液のタンパク分解作用がタンパク凝固現象に先立ち，凝固現象は分解作用に遅れて進められる傾向がみられた．アクトミオシンの分解，凝固度については既述のごとくであるので，Fig. 4 では水抽出区分，W-E 液抽出区分のそれらをアクトミオシンと比較すれば，W-E 液抽出区分の分解度および凝固度はアクトミオシンの3/5及び2/5程度である．水抽出区分はアクトミオシンの1/3程度の分解度を表わしたが，供試酵素作用による凝固現象はほとんどなかった．しかし水抽出区分の場合，酵素反応条件である 30°C，pH 8.0，30分間で基質タンパク量のおおよそ 10～15 % 位が自然凝固して析出することが酵素反応の対照試験において観察された．

ところでアクトミオシンに対する分解と凝固現象とが併行することが該菌酵素液の特異性であるかどうかを知るため，さきの 100 余株の菌のうちタンパク分解力が顕著であった数株の粗酵素液とトリプシンについてこのことを検討した結果，Fig. 5 のようにこれらの作用は供試菌酵素液に特異的でなく，他の細菌酵素液およびトリプシンにも，その量的には差があるが，アクトミオシン分解，凝固が併行してみられた．

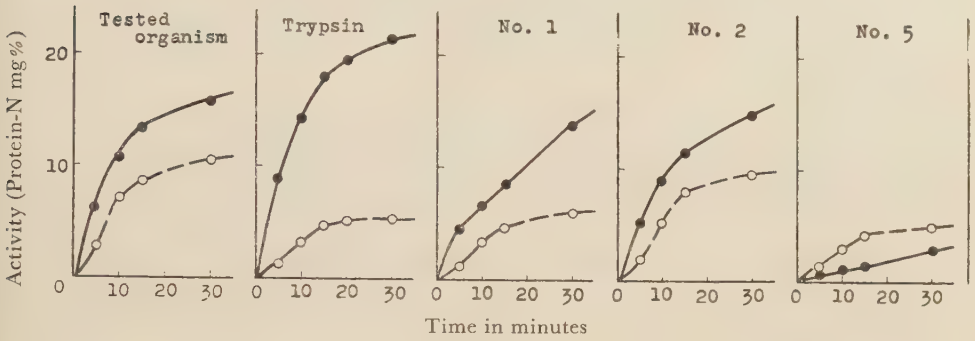


Fig. 5. Proteolytic activity and coagulating power of trypsin and several bacterial enzymes.
(Protein-N 50mg%, pH 8.0, 30°C.)
——•—— : Proteolytic activity
……○…… : Coagulating power
(to apply from Fig. 5 to Fig. 9)

4. 分解，凝固両作用の二，三の性質　分解と凝固の両作用が如何なる関係をもつかを知る一助として両者の二，三の性質を比較検討した．

1) 培養日数と作用度　ペプトン-デキストリン培地を直径 18mm の供試管に 10ml 宛分注，滅菌，供試菌を接種して 32～33°C で静置培養し，細菌の成育に伴う分解力と凝固力との産生関係を知るため各所定培養日数ごとにそれらの活性度を測定した．その結果は Fig. 6 のごとくであって，両活性度とも培養 2～3 日で急激に増し，3～6 日まで漸次増大していくが 7 日以後は却って活性度が低下する傾向であった．この傾向は両作用について大差はなかった．

Fig. 6. Effect of cultivation period on the enzyme production.
The activity measured at pH 8.0 and 30°C, for 30 minutes.
Substrate : actomyosin of mackerel muscle, Protein-N 60 mg%.

2) 精製による活性度変化　ペプトン-デキストリン培地に 6 日間静置培養した培養液を精製に供した．予備実験において培養液はこれに $CaCl_2$ 0.1M を加え（pH 7.4），更に沪過助剤としてセライトを加えて振盪後沪過して清澄化しても，また水に対してセロファンで透析しても活性度に損失のないことを確かめ，次いで硫安塩析により両作用ともに20～60%硫安飽和度で塩析され，アルコールによっては20～70%濃度範囲で両作用活性物が沈澱する

Table 2. Purification process of the bacterial proteinase.

	Total volume (ml.)	Activity* (U./ml.)		Total activity (U.)		Enzyme yield (%)	
		P.**	C.***	P.**	C.***	P.**	C.***
Culture solutions	3,600	1	1	3,600	3,600	100	100
$CaCl_2$ added to 0.1M (pH 7.4)							
Celite added to 0.5% and filtered with suction							
↓ filter							
Residue							
Filtrate (Crude enzyne solutiom)	3,250	1	1	3,250	3,250	90	90
$(NH_4)_2$ SO_4 added to 0.2 saturat, filtered							
$(NH_4)_2$ SO_4 added to 0.6 saturat in the filtrate, during one day at room temperature							
↓ Filtered							
Salting out matter							
Dissolved in M/500 $CaCl_2$, NaCl soln.							
Dialyzed for two days through cellophane against M/500 $CaCl_2$, NaCl soln., chilled							
Dialyzed solution	482	2.7	2.5	1,301	1,205	36	33
↓ Norit added to 1%, filtered, decolored							
Decolored solution	430	2	2.5	1,075	1,075	30	30
Et (OH) added to 20 vol. %, chilled, centrifuged (3500r. p. m.), 10 min.							
Et (OH) added to 70 vol. % in the supernatant, during one day at 0°C.							
↓ Centrifuged (3500r. p. m.), 15 min.							
Precipitate							
Dried in vacum, dissolved in M/500 $CaCl_2$, NaCl soln.							
Purified enzyme solution	30	10.8	17.5	324	528	9	14

* Activity of culture solution is arbitrarily taken as one unit.

** P : Proteolytic activity

*** C : Coagulating power

ことを観察した．そこで供試粗酵素液を塩析，脱色，アルコール沈澱の順で精製し，かなり強化された精製酵素液を調製し得た．その精製操作及びそれに伴う活性度の変動は Table 2 のごとくである．

この精製操作の最終段階において，分解度は粗酵素液の10.8倍に，凝固度は17.5倍に濃縮された．そして分解度と凝固度の濃縮割合の変化は塩析，脱色液までほとんど同じ割合であったが，アルコール沈澱操作によっては凝固力の精製度の方が高い．しかしこの程度の精製液においても分解と凝固現象は併行していた．

3)　作用 pH　　精製酵素液を用いて分解，凝固両作用の各種 pH における活性度を測定した結果は Fig. 7 に示す如くである．

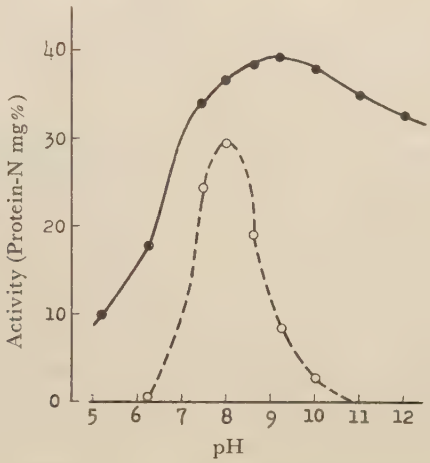


Fig. 7.　Influences of pH on the bacterial proteinase activity.
The activity measured at various pH and 30°C, for 30 minutes.
Substrate : Actomyosin of mackerel muscle, Protein-N 105mg%.

この際，各 pH の 緩衝液は pH 5～8 では燐酸緩衝液，pH 7～11では硼酸—炭酸ソーダ緩衝液，pH 12は硼酸—苛性ソーダ緩衝液を使用した．この結果，分解作用と凝固現象とでは明らかに異る pH 活性度曲線を画いた．分解作用では至適 pH 9.2 にあり，それより酸性側に移るにつれて活性度の低下が大きく，pH 5.0 で過半の活性度を失う．アルカリ側への移動では活性度の減少は少く，pH 12 においても最大活性度の時の 15％位の低下に止まった．一方凝固度にあっては pH 8.0をピークとする曲線を画き，pH 8.0 より若干の移動でもその活性度の低下は顕著で，pH 6.0 以下，pH 11 以上では失活した．

4)　作用温度　　精製酵素液の分解，凝固両作用に対する作用温度の影響は Fig. 8 のごとくであった．

pH 8.0，作用時間15分の反応条件で分解作用の至適温度はかなり高く60°C であったが，凝固現象では作用温度が 45°C 以上では基質アクトミオシンの熱凝固が現われ，凝固度測定はできなくなる．ゆえにこの凝固度の温度曲線は見掛上のものであって，40°C にピークがあった．

5)　耐熱性　　精製酵素液を所定温度で15分間加熱処理し，その残有活性度を測定し，加熱に対する安定性を検討した．その結果は Fig. 9 のごとくであって，酵素液を 15 分間加熱

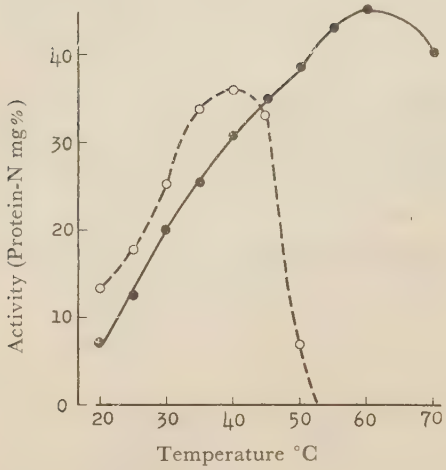


Fig. 8. Influences of temperature on the bacterial proteinase activity.
The activity measured at pH 8.0 and various temperature, for 15 minutes.
Substrate : actomyosin of mackerel muscle, Protein-N 80 mg%.

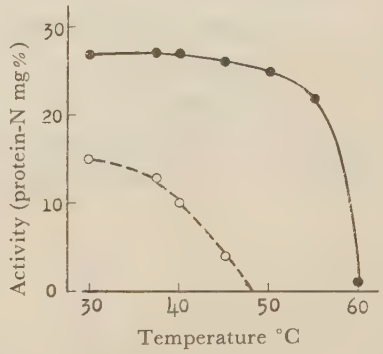


Fig. 9. Heat-inactivation curve of the bacterial proteinase activity.
Changes in activity of enzyme solution exposed to various temperatures for 15 minutes.
The activity measured at pH 8.0 and 30° C, for 15 minutes.
Substrate: actomyosin of mackerel muscle, Protein-N 95mg%.

することによって分解作用では50°Cで10%，55°Cで20%，60°Cで100%それぞれ失活したが，凝固力は分解作用に比して耐熱性が弱く 40°C，45°C，50°C でそれぞれ33%，75%，100%失活した．

5. 凝固アクトミオシンに対する分解作用

分解作用と凝固現象との関連を考察するに資するため，アクトミオシンの各様の凝固物に精製酵素液を作用させてその分解度を測定し，未変性のアクトミオシンに対する分解度と比較した．この場合前述したように凝固して不溶解状態にある基質に対する酵素作用にはその接触度等に問題があるのでホモゲナイズして可及的均一として用いた．実験に供したアクトミオシンの凝固物は熱凝固物，低塩濃度沈澱物，供試酵素液による凝固析出物の 3 種であって，次のごとくして測定した．

熱凝固アクトミオシンに対する分解度をみるため，サバ肉アクトミオシン（タンパク態窒素濃度 82mg%， pH 8.0) をフラスコ 8 ケに分取し，20°（対照)，38°，40°，45°，50°，60°，80°，100°C で 30分間加熱処理を施したものをそのまま 5ml とって基質とし，精製酵素液を作用させてその分解度を測定した．別に，加熱処理したアクトミオシン液を3000rpm 15分間遠沈した上液のタンパク態窒素をビューレット法で定量した結果を併せて図示すれば Fig. 10 のごとくである．アクトミオシンは20～40°Cの加熱処理によって熱凝固は少いが，50～55°C の加熱で大部分が凝固し，アクトミオシンの熱凝固点の文献値[11] とよく一致する結果であった．このような割合で熱凝固タンパクを含む試料に酵素液を作用させた時の分解度は，加熱処理温度が高く，より多くの割合で熱変性アクトミオシンを含む試料程分解度は低くなった．加熱温度 55°C 以上で，大部分のアクトミオシンが熱凝固されてしまった試料では分解度はほぼ一定し，生アクトミオシン（対照）の⅔程度分解度を示すにすぎない．

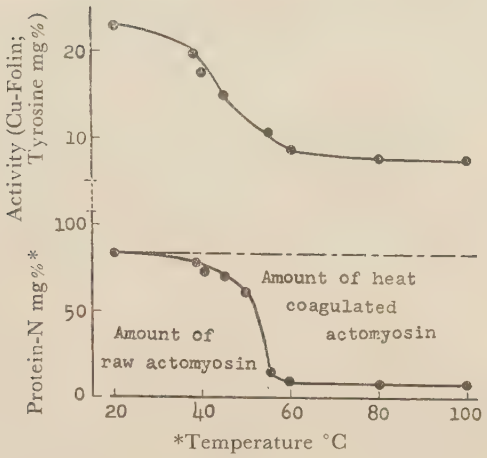


Fig. 10. Proteolytic activity of the bacterial proteinase upon actomyosin denatured by heating.

(Protein-N 82mg%, pH 8.0, 30°C, 30 minutes)

* Changes in amount of raw actomyosin exposed to various temperatures for 30 minutes.

すなわち生アクトミオシンに比し熱凝固アクトミオシンに対する該酵素液の分解度は見掛上かなり低下することが諒解された。

アクトミオシンは中性塩溶液，例えば KCl の0.4M 以上の溶液に溶けるが，KCl 濃度が0.1M以下になると溶けずにかさばった沈澱として析出してくる．この低塩濃度沈澱状のもの，お

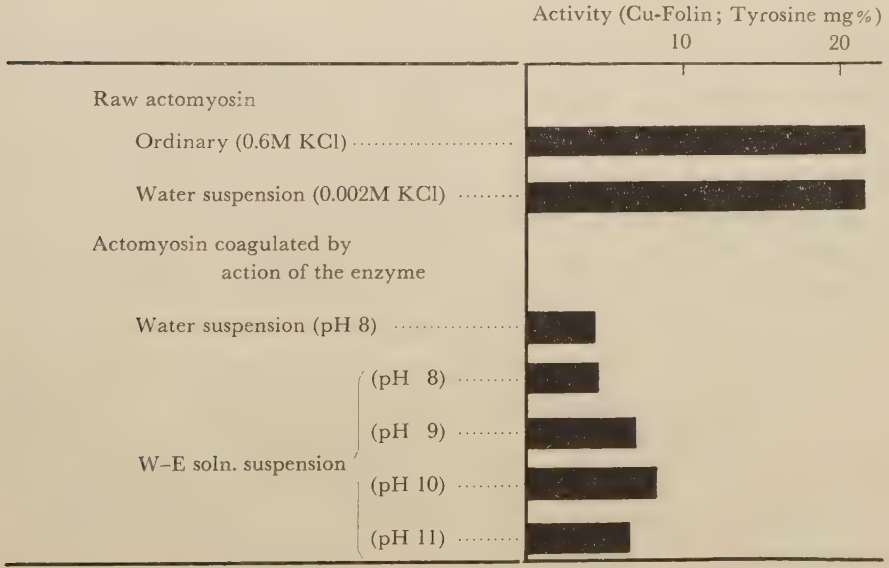


Fig. 11. Proteolytic activity of the bacterial proteinase upon raw actomyosin and that coagulated by action of the bacterial proteinase.

The activity measured at 30°C., for 30 minutes.
Concentration of protein as substrate was 90 mg% Protein-N.

よび供試酵素液のタンパク凝固力によって生じた凝固析出物等をそれぞれ集め数回洗浄して所定液に一定濃度で懸濁し，それらに対する精製酵素液の分解作用を検討した結果は Fig. 11 である．

無処理アクトミオシンと低塩濃度沈澱状アクトミオシン液とでは前者は溶解状，後者は沈澱析出状と，そのタンパクの物理的性状に大きな差があるが，後者と云えども変性アクトミオシンとは言えない．これらの両状態の生アクトミオシンに対する分解度は全く同じであった．この点，溶解状態と析出状態との状態変化は酵素作用による分解に問題となるような影響を与えなかった．次に細菌酵素液の作用により凝固析出したアクトミオシンを水または W-E 液に懸濁したものおよびその懸濁液の pH を変えたもの等に対する供試酵素液の分解度を測定した結果では，これら凝固物は生アクトミオシンの⅕～¼の分解度しか示さず，細菌酵素液の作用により凝固することによって見掛上分解し難くなることを認めた．このアクトミオシン凝固物は懸濁液の pH を 9.0 以上にするとやや溶ける傾向があったので，懸濁液の pH を変えてみたが，この際 pH を 9，10 に調節することによって pH 8 におけるよりも分解され易くなり，pH 10 に懸濁したものは pH 8 のそれの 2 倍位の分解度を示したが，それでも生アクトミオシンに比し相当低い分解度であった．pH 11 の W-E 液に懸濁したものでは，また分解度は減少し，このあたりは凝固物の溶解性および供試酵素液の作用 pH との関連で活性度は複雑な増減を呈した．

考　　察

供試菌の意義

肉質に作用する細菌は栄養源をタンパク質の分解に仰ぐものであるから，これにはタンパク質を分解する何らかの機構が存在することが考えられるが，作用する細菌のすべてにタンパク質を分解してペプトン，ポリペプチッド，アミノ酸，更に低級な物質までにする一連の作用力が等しく存在するものではない．腐敗の進行は多種の菌が錯綜して作用し，ある菌がタンパク質を分解し，他の菌が更にそれを引継いで低級なものに分解するというような綜合的連続作用の現れである．このうちタンパク質分解の機能を有する細菌は *Bacillaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Enterobacteriaceae* のある属である[12]．この作用は主として培地中に分泌された菌体外酵素によってなされるもので，これはタンパク分子が細胞内に直接滲透し得ない為の必然的結果である．本実験での目的菌は肉質変化の初段階においてタンパク質に作用する菌である．この選択にはタンパク分解の常法的鑑別試験であるゼラチン液化性を用いたが，ゼラチンの液化性は必ずしも強力な腐敗作用をもつことを意味するものではなく，ゼラチンを液化してもビューレット反応陰性物にまでは分解出来ないものもある．ちなみに実際腐敗菌といわれている菌，*Proteus vulgaris*, *Pseudomonas fluorescens*, *Achromobacter sp.*, *Escherichia coli* 等についてゼラチン液化性，カゼイン分解力を比較したが，これら腐敗菌と云われる菌の蛋白分解力は逆に供試菌のそれより弱い結果が得られた．これらの点より選択された供試菌の蛋白性物質に対する性格を充分念頭におくべきである．

中温好気性芽胞菌，特に枯草菌には多量のプロティナーゼを分泌する菌株が多く，随分古くから注目されていたが，本実験に選ばれた供試菌も枯草菌 *Bacillus subtilis* の類縁菌であった．この菌が産生する proteolytic enzyme は普通のタンパク基質であるカゼイン，変性

ヘモグロビン，ゼラチン，牛乳を容易に分解し，また生タンパク基質である魚肉アクトミオシンをも容易に分解した．これらの分解は Fig. 7 のごとくアルカリ側に至適 pH があり，Fig. 2 で知られたように基質タンパク質を0.2M 三塩化酢酸可溶性の非タンパク性物質にまで分解するがペプチッド結合の開裂は少い分解様式であって，エンドペプチダーゼ様の作用をみせた．これらの諸点より考え，供試菌が産生する．proteolytic enzyme はいわゆる塩基性プロティナーゼであって，該菌が魚肉の肉質変化に関与する場合，腐敗の初期まず蛋白質を部分加水分解して腐敗進行の手始めをなし得ることが認められた．

分解と凝固の関連性

一般にこの種 proteolytic enzyme は未変性のタンパク基質に対しては作用し難いことが云われており，例えばトリプシンは天然のタンパク質に対してはその作用がきわめて弱く，卵アルブミン，血清グロブリン，ヘモグロビンなどを消化しない．しかしこれらのタンパクを加熱その他の方法で一度変性させるとすみやかに加水分解する[13]．また三浦[14]はタンパク食品にプロティナーゼを作用させ生魚肉に対する消化作用があまり活発でないのは未変性タンパクに作用し難いためであろうと考察している．

本実験結果における Fig. 1 からも生魚肉そのままの基質は他の基質カゼイン，ヘモグロビンよりも分解度がかなり低いことが知られたが，しかし同じ魚肉から抽出分離したアクトミオシンは魚肉そのままよりも相当高い分解度であった．他方 Fig. 4 のごとく魚肉の水抽出区分とアクトミオシンとの比較では前者の分解度の方が相当低い．これは同じ魚肉中で，しかも生の状態であっても，魚肉構成タンパク質の中にはかかる酵素によって直接分解され易いものと，分解され難いものとがあることが知られた．現に魚肉を，生魚肉，W-E 液抽出区分，アクトミオシン，水抽出区分，魚肉ストローマとに分け同一濃度で供試酵素液を作用させて比較した結果では，ストローマが最も分解され易く，次いでアクトミオシン，W-E液抽出区分，生魚肉で，水抽出区分が最も分解され難い結果であった．このことは筋肉構成タンパク質の中で不溶性のストローマが最も分解され易く，加うるにグロブリン性タンパクであるアクトミオシンとアルブミン性蛋白であるミオゲンとでも分解度が異ることを示し興味深い現象であった．

Fig. 3 でアクトミオシン及び牛乳が分解と同時に凝固析出する現象がみられたが，これに関して凝乳機構については色々説明が加えられている．すなわち凝乳酵素としてレンニンがあげられており，レンニンに限らずペプシンやその他多くのプロティナーゼも生乳（カゼイン）を部分水解して不溶性にする．牛乳に対しレンニンを pH 5.0～5.8 で作用させた場合 enzymatic stage と non enzymatic stage との 2 つの過程があることが知られており，前者の過程でカゼインが部分加水分解されてパラカゼインとなり，次にパラカゼインが Ca イオンの存在においてCa- パラカゼイネイトとなり凝固すると説明されている[15]．

供試酵素液によるアクトミオシン分解と凝固の関連性について最初に考えられるのは前述のように，proteolytic enzyme が生タンパク質には作用し難く，そのためアクトミオシンのごとき生タンパクにこの種酵素を作用させると，まず生タンパクを何らかの機構で変性した後，分解するという関連である．ちなみに Christensen はトリプシンが反応の初段階においてデナチュラーゼ (denaturase) 作用をもっていることを主張し，Linderstrøm-Lang もこの考えを支持している[4]。また Ottesen 等は *Bacillus Subtilis* の一株の産生するプロテ

ィナーゼが native albumin に作用して，この分子の一部を分解して別のタンパク質 plak-albumin に変化することを観察している[4].

このような点を本実験の結果から考察すれば，まずアクトミオシンの分解と凝固との反応経時的活性度変化よりみて凝固現象は分解に遅れて起る傾向が見出されたことや (Fig. 3, 4, 5)，また供試酵素液によって凝固析出したアクトミオシンや熱凝固アクトミオシンは生アクトミオシンよりも供試酵素液による分解度が相当低下することよりして (Fig. 10, 11)，分解作用にささだちまずアクトミオシンを変性してこれを分解しやすくするという関係は成立しない.

次に分解，凝固両作用の二，三の性質を比較したところでは，培養日数に伴う活性度の消長は両作用およそ同じ傾向であった (Fig. 6)。他に分解作用の至適 pH は 9.2，凝固度の至適 pH は8.0，また分解作用の至適温度は60°Cであったが凝固度では見掛上のピークが40°Cであり，凝固現象の方が分解作用に比較して耐熱性が弱い等 (Fig. 7, 8, 9) の二，三の性質に相違点が見出された．これらの結果から分解と凝固とは性質の異る別々の酵素作用によるもののごとき印象をうけた．しかしここで問題になることは，基質であるアクトミオシンが変性しやすいタンパク質であって pH 変化，温度変化に敏感であり，酵素作用に影響するpH，温度は同時に基質アクトミオシンにもかなり大きい影響を与えることである．たとえばアクトミオシンの溶解度は溶液の pH によっても著しく変化し，pH がある範囲内のアルカリ側では溶解度は大きく性状も安定であるが，酸性側では等電点 pH 5.0～5.5に近づくにつれて溶解度が減少する．そのうえ更に，酵素の作用で凝固析出したアクトミオシンは pH 9 以上のアルカリ側では幾分再溶解する傾向があり，反面酸性側では沈澱がかさばることも見られた．温度によっても，Fig. 10 からも知られるように 50°C 以上の温度では基質アクトミオシン自体が熱凝固して，酵素の作用による凝固現象は現れる余地すらなくなる．こうした基質アクトミオシン自体の変化は大きく活性度に影響する．これらのことから，ここに表現された分解度と凝固度は見掛上の活性度であり，両作用に現れた温度曲線，pH 曲線等の諸性質の相違がそのまま絶対的な相違であって，両作用が酵素学的特性を異にする 2 つの酵素活性によるものと考えることは早計であろう.

別に酵素液を硫安，アセトン，アルコールによる分画精製によっても今のところ両作用の活性区分を分別することは出来なかったことや，アクトミオシンのこの分解，凝固現象は，Fig. 5 の結果少くとも供試菌酵素液の特異性ではないこと等と考え合せて，アクトミオシンが分解作用により部分加水分解されることによって二次的に凝固析出しているとも考え得る．とにかく両作用は密接な一連の相関反応であると推測されるが，その関連性の詳細は酵素のより一層高度の精製や，また酵素の作用により凝固析出するアクトミオシンのタンパク質化学的性状を明らかにすることによって更にはっきりと説明づけられると思われる.

いずれにしてもこの種細菌プロティナーゼが魚肉の肉質変化進行初期に生魚肉タンパク，とくに主要成分であるアクトミオシンの部分加水分解，変性にかなり大きな割役を演じていることが認められた.

要　　約

海産魚からゼラチン液化性の強い *Bacillus subtilis* の一変株を分離し，該菌が産出する塩

基性プロティナーゼの種々のタンパク質，特に魚肉タンパク質に対する作用を検討した．その結果は次のごとくであった．

供試菌が産生する塩基性プロティナーゼは，カゼイン，ヘモグロビン，ゼラチン，牛乳等に対してこれらを容易に分解した．生魚肉タンパクにも作用するが，魚肉構成タンパク質の中ではストローマ及びグロブリン性蛋白であるアクトミオシンは分解され易く，アルブミン性タンパク質であるミオゲンはその分解度が低いことが知られた．このタンパク分解は 0.2 M 三塩化酢酸可溶性の非タンパク性物質の生成は大きいが，ペプチッド結合の開裂量は少い．

供試酵素液を魚肉アクトミオシンに作用させた場合，分解に併行して蛋白が凝固析出した．この分解作用の至適 pH は 9.2，凝固力の至適 pH は 8.0，また分解作用の至適温度は 60°C，凝固力の見掛上の活性は 40°C にピークをもち，凝固力の方が分解作用に比較して耐熱性は弱い等の二，三の見掛上の性質に相違がみられたが，とにかく両作用は密接な一連の相関反応であることは推測出来た．

供試酵素液の作用によって凝固析出したアクトミオシンは未変性のアクトミオシンとは中性塩液に対する溶解度，供試細菌プロティナーゼの分解作用による被分解度にかなりの相違が見出された．

いずれにせよ，この種細菌プロティナーゼが魚肉の肉質変化進行初期に生魚肉タンパク質の部分加水分解，変性にかなり大きな役割を演じていることが認められた．

終りに本研究を行うに当り御指導を賜った本学斉藤要助教授に深甚の謝意を表する．

文　　献

1) 谷川英一・坂井　稔 (1960)：水産微生物学，恒星社厚生閣，p. 379.
2) 中島三之亟 (1952)：各種日常食品より分離した Escherichia 属の研究，腐敗研究所報告，**V** 29—44.
3) 福本寿一郎・山本武彦・市川和宏 (1958)：中性プロティナーゼの種々蛋白質に対する作用，農化，**32**，375—379.
4) 赤堀四郎 (1956)：酵素研究法，朝倉書店，**2**，p.p. 297—303.
5) 江上不二夫他編 (1953)：標準生化学実験，文光堂，p. 245.
6) 赤堀四郎 (1955)：酵素研究法，朝倉書店，**1**，p. 166.
7) 赤堀四郎・水島三一郎 (1954)：蛋白質化学，共立，**1**，p. 171.
8) 須山三千三・鴻巣章二 (1958)：ニンヒドリン法によるアミノ酸の定量法，日水誌，**32**，555—560.
9) 松本重一郎・金光庸俊 (1955)：Biuret反応による魚肉蛋白質の定量について，日水誌，**21**，284—288.
10) Bergey (1957)：Manual of Determinative Bacteriology, 7th Ed. p.p. 613—634.
11) 赤堀四郎・水島三一郎 (1955)：蛋白質化学，共立，**3**，p. 435.
12) 田中正二・鈴木達雄共訳 (1955)：細菌の代謝，丸善，p. 112.
13) Sumner, J. B., somers, G. F. (1953)：*Chemistry and Methods of Enzyme*, 3Ed. p. 173.
14) 三浦勇吉 (1958)：麹菌プロテアーゼの消化作用に関する研究，農化，**32**，486—490.
15) Sumner J. B., Myrback K. (1951)：*The enzyme*, Vol. 1, part 2, p. 1098.

海藻のビタミンB群に関する研究－I

ビタミン含有量について

金　沢　昭　夫

Studies on the Vitamin B-complex in Marine Algae-I

On Vitamin Contents

Akio Kanazawa

Abstract

Generally, the vitamin B-complex widely contains both in the animal and vegetable kingdom, and a lot of reports have been published concerning its content, but as to the vitamin B-complex in marine algae, we have had only partial and fragmentary reports in two or three special sorts of it. However, much amounts of marine algae growing in the ocean is not utilized to-day. Accordingly, with the use of scores of marine algae in the southern sea-fronts of Japan as the material, content-measurement was carried out on the following vitamin B complex; namely, thiamine, riboflavin, nicotinic acid, pantothenic acid, biotin, folic acid, lipoic acid, B_{12}, choline and inositol. The clarified results of the study may be used as some important referential materials in the further utilization of algae as foods and feeding materials for some domestic animals.

First, the respective vitamin-content in the specific algae was examined with the following results ascertained; namely, thiamine content was found to be within the range of 0.27–4.60 γ/g., being abundant in *Gracilaria textorii*, *Gloiopeltis tenax*, *Chondrus ocellatus*: Riboflavin content, 0.84–23.08 γ/g., being abundant in *Porphyra tenera*, *Gelidium amansii*, *Chondrus ocellatus*, *Gloiopeltis tenax*: Nicotinic acid content, 3.51–68.33 γ/g., being abundant in *Porphyra tenera*, *Laurencia okamurai*, *Gracilaria textorii*: Pantothenic acid content, 0.25–12.21 γ/g., being abundant in *Lomentaria catenata*, *Gracilaria textorii*, *Laurencia okamurai*, *Sargassum thunbergii*: Folic acid content, 46.0–857.1 mγ/g., being abundant in *Hydroclathrus*, *clathratus*, *Gelidium amansii*, *Laurencia okamurai*: Biotin content, 18–294 mγ/g., being abundant in *Porphyra tenera*, *Sargassum thunbergii*, *Hizikia fusiforme*, *Ulva pertusa*: Lipoic acid content, 90–985 mγ/g., being abundant in *Craciloria textorii*, *Porphyra tenera*, *Chondrus ocellatus*: B_{12} content, 3.3–290.8 mγ/g., being abundant in *Porphyra tenera*, *Chondrococcus japonicue*, *Gracilaria gigas*, *Caulerpa racemosa*: Choline content, 24–4885 γ/g., being abundant in *Gelidium amansii*, *Porphyra tenera*: Inositol content, 55–1131 γ/g., being abundant in *Myelophycus caespitosus*, *Gracilaria textorii*, *Caulerpa racemosa*, *Sargassum thunbergii*.

Concerning, the class-specific difference of these vitamin-contents in the three classes of Chlorophyceae, Phaeophyceae and Rhodophyceae, in case of Chlorophyceae, the scarcity of the measured samples prevented the fixed conclusion, but in case of the other two classes a considerable difference was generally confirmed. This is to say that in Rhodophyceae such vitamin B-complex as thiamine, riboflavin, nicotinic acid, pantothenic acid, B_{12} and choline are more abundant than in Phaeophyceae. While, the biotin content was found to be less in Rhodophyceae than in Phaeophyceae by about one and half. Concerning the contents of other vitamin B-complex, in folic acid and inositol, almost no difference could be observed.

Next, after making a comparison of the vitamin content of algae assayed by author with those of vegetables, fruits, meats and fish-meats which have been well known, among

the animal and vegetable foods, for their rich vitamin-content, the following results were obtained, namely: Among vitamin B-complex in the marine algae, the contents of inositol, folic acid and thiamine are, in some classes, inferior to those of animal and vegetable foods: while, other vitamin B-complex contents, namely the contents of B_{12}, riboflavin, nicotinic acid, biotin, pantothenic acid, lipoic acid and choline were found to be equal or even superior to those of other foods.

In summary, the hitherto neglected role of the marine algae as the vitamin B-complex supplying resources was explored and fixed to be of equal or even more excellent value, as compared with such important foods as vegetables, fruits, and meats. According to the advancement of the researches concerned with the distribution of marine algae and the studies of the utilities for foods accompanied with the advanced technique of putting, dressing, and manufacturing of the marine algae, their vast potentiality as the vitamin B supplying resources would be beyond estimation.

By the way, among the vitamin B-complex, as to pantothenic acid, biotin, lipoic acid, choline, and inositol, hitherto, almost nothing was known about their existence, to say, nothing of their content in algae, so, the present author was fortunate enough to be the first one to have confirmed their existence and fixed their contents.

Farther more, it was, also, ascertained that, as was generally seen in animal and vegetable tissue, vitamin B-complex in the marine algae was found to be existing in the conjugated form. And it was after changing this conjugated form into free form that each separate assays was carried out by the present author concerning the specific form.

And in folic acid, biotin and B_{12} there exist many homologues in respective case, so, on separate assays of these homologues was carried out respectively, and the general existence-manner of the vitamin B-complex in marine algae field was here ascertained.

目　　次

海藻のビタミン含有量について
I. 緒　　言……39
II. ビ オ チ ン……40
III. ビオチンおよびその類似体……44
IV. ビオチンおよびその類似体の分別定量法……47
V. コリンおよびイノシトール……51
VI. チアミン，リボフラビン，ニコチン酸およびパントテン酸……54
VII. リ ポ 酸……58
VIII. ビタミン B_{12}……61
IX. 論 議・総 括……64
文　　献……67

I. 緒　　言

本邦においては古くから海藻が利用されており，現在も食用，肥料，化学薬品原料，工業用原料などとして用いられている．そのうち食用に供されている藻類は藍藻，緑藻，褐藻，紅藻のすべてに亘っているが，一般に蛋白質および脂肪などの含量が少なく，炭水化物もまた特殊のもので栄養価は低いとされている．しかしながら，栄養上重要な微量有効成分，例えば遊離アミノ酸やビタミン類に関し行なわれた近年の研究によって，ある意味では動物肉に匹敵する藻類もあることがわかり，海藻の栄養的価値が再認識されつつある．

また藻類のビタミンに関しては古くから知られていたA，Dのほか，ビタミンCも新田ら[1]，富山ら[2),3)]により測定され，それらの給源として重要視されてきたが，ビタミンB群に

関しては一部の藻類について，2，3のビタミンについて断片的に測定されているにすぎない．しかるに自然界には莫大な海藻資源が未利用のまま残されているので，未利用資源の開発のため多くの海藻におけるビタミン含有量を明らかにすることは極めて有意義なことである．

著者は海藻におけるビタミンB群即ちチアミン，リボフラビン，パントテン酸，ニコチン酸，ビオチン，葉酸，リポ酸，B_{12}，コリンおよびイノシトールなど多種類にわたって，その含量，形態，分布の状態などをしらべ，海藻の食品，飼料，餌料などとしての価値判断に再検討を加えると共に，得られた結果を海藻の高度利用に応用する目的で本研究を行なった．

その結果海藻のビタミンB群含量は陸上植物のキャベツ，ホーレンソウあるいは動物肉などに匹敵するものが多く，今まで栄養的に軽視されてきた海藻がこれらビタミン類の給源として優れた天然資源であること，今後加工技術の進歩と相まって有望な植物性食品として，あるいは少なくとも家蓄の飼料などに利用されるべきものであることを明らかにした．

著者はさらに海藻中ビタミンB群は他の動植物組織と同様，結合型で存在することを明らかにし，この結合型を遊離型に変えて各型を分別定量した．

また葉酸，ビオチンおよび B_{12} などにはそれぞれ多くの類似体が存在するが，それら各類似体についてもそれぞれ分別定量し，海藻における各ビタミンB群の存在状態の全貌をも解明した．

なお海藻中の葉酸およびフオリン酸に関してはすでに著者ら[4]によって発表されているので本報より除外し，残りのビタミンB群について報告することにした．ただし第IX節，論議・総括では葉酸およびフオリン酸も含めて考察を加えた．

本文に入るに先立ち，この研究を行なうに当り終始御懇切な御指導を賜った九州大学富山哲夫先生，本学柏田研一教授，柿本大壱教授，田中剛教授に謹んで感謝の意を表します．

II. ビ オ チ ン

天然物中ビオチン (Biotin) は酵母，肝臓，卵黄および牛乳などに多量含まれているが，植物種子にも比較的多く，Lynes ら[5]によれば，その含量は発芽とともに増加すると報告されている．また渡辺ら[6]は桂皮，甘草など生薬中の含量は 25～296 mγ/g であったと報告している．しかるに目下のところ海藻のビオチンに関しては報告をみない．

著者は海藻組織のビオチンを bioassay によって測定し，その含量および形態をしらべた結果，海藻はかなり豊富なビオチン資源であることを明らかにした．

1. 実験方法

A. 試　料

試料は昭和33年5月鹿児島県薩摩半島南端長崎鼻および鹿児島市付近の海岸で摘採し，直ちに氷冷して持ち帰えり定量に使用した．

B. 定 量 法

ビオチンの *Lactobacillus arabinosus* (ATCC 8014) を用いる定量法には Wright ら[7]，Barton-Wright[8]，Luckey ら[9] および新村ら[10] の研究があるが本法では主として新村らの方法によった．

2. 結果および考察

A. 海藻中のビオチン遊離化の吟味

自然界におけるビオチンは一般に結合型で存在するが，海藻中のビオチンについては明らかではないので，まず海藻中のビオチンが結合型で存在すると予想し，結合型ビオチンを遊離型にする方法について吟味した．結合型を遊離型にするには，一般にタカジアスターゼ消化法，H_2SO_4 加圧分解法[7),11),12)] が用いられているが，そのうち 6N H_2SO_4 を加えて加圧分解する方法がよいとされている．しかしこれは動物性試料についての遊離化法であるため，まず海藻試料に対する処理方法を設定するための実験を行なった．アナアオサ（緑藻），ウミトラノオ（褐藻），マクサ（紅藻）の各試料（新鮮物）4g に 1N，2N，3N，4N，5N の H_2SO_4 25cc を加え 15 lbs, 1時間加熱分解したのち，NaOH で pH 6.8に調整し，全容 100cc として沪過後その 0.5cc をもって測定を行なった．その結果は Fig. 1 の通りである．

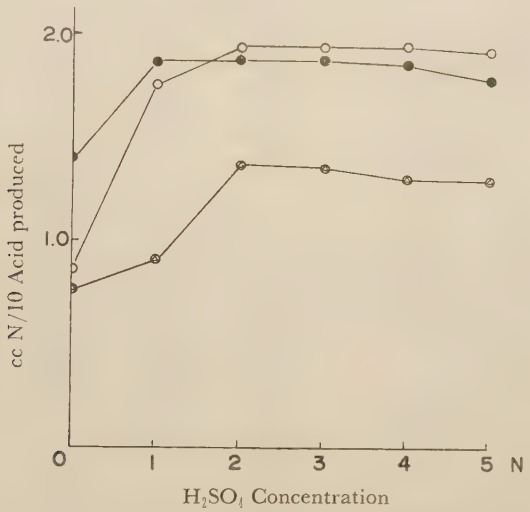


Fig. 1. Degree of liberation of biotin in seaweed by H_2SO_4

—○— Anaaosa, *Ulva pertusa*
—●— Umitoranoo, *Sargassum thunbergii*
—△— Makusa, *Gelidium amansii*

海藻中の結合型ビオチンを遊離型にするために用いる H_2SO_4 濃度は，アナアオサ，ウミトラノオ，マクサの3試料いずれも2～5Nの間では大差のないことが判ったが図の結果を考慮して今後 2N H_2SO_4 を用いることにした．

B. 海藻中のビオチン含量

海藻のビオチン含量は試料の採集場所，時期など条件の相異により異なることも考えられるが，一応前記試料について総ビオチンを測定した結果は Table 1 の通りである．無水物g当りの mγ であらわしたが，同時に無水・無灰物，無水・無灰・無脂肪物，無水・無灰・無脂肪・無窒素物および窒素に対するビオチン含量（γ/g）も付記した．

海藻中のビオチン含量は無水物としてあらわすと，緑藻類 115～224 mγ/g，褐藻類 126～282mγ/g，紅藻類 18～294mγ/g で，全体を通じて見ると各藻類は比較的近似した値を示し，

Table 1. Biotin contents of seaweeds. (mγ per one g.)

	Seaweeds		Moisture free	Moisture, ash' free	Moisture, ash, fat free	Moisture, ash, fat, nitrogen free	Biotin/Nitrogen (γ/g)
Chlorophyceae	Hitoegusa,	*Monostroma nitidum*	115	172	194	198	9.6
	Anaaosa,	*Ulva pertusa*	224	259	275	284	9.0
	Ribonaosa,	// *fasciata*	134	150	161	168	7.5
	Kikkogusa,	*Dictyosphaeria cavernosa*	208	235	252	260	8.1
	Sennarizuta,	*Caulerpa racemosa*	131	176	178	183	6.2
Phaeophyceae	Amijigusa,	*Dictyota dichotoma*	187	252	257	263	11.6
	Komongusa,	*Spathoglossum pacificum*	150	225	231	239	14.2
	Herayahazu,	*Dictyopteris prolifera*	163	249	256	266	12.4
	Umiuchiwa,	*Padina arborescens*	160	213	228	232	12.3
	Shiwanokawa,	*Petrospongium rugosum*	149	230	245	259	9.0
	Iwahige,	*Myelophycus caespitosus*	162	252	259	292	10.8
	Kayamonori,	*Scytosiphon lomentaria*	247	334	343	353	13.7
	Fukuronori,	*Colpomenia sinuosa*	136	227	235	239	10.0
	Kagomenori,	*Hydroclathrus clathratus*	181	301	333	348	7.9
	Habanori,	*Endarachne binghamiae*	185	315	335	359	5.1
	Hijiki,	*Hizikia fusiforme*	237	338	340	347	16.9
	Hondawara,	*Sargassum fulvellum*	126	218	233	239	10.5
	Umitoranoo,	// *thunbergii*	282	453	492	502	25.6
	Narasamo,	// *nigrifolium*	159	222	245	257	5.3
	Mametawara,	// *piluliferum*	174	290	301	309	13.5
Rhodophyceae	Asakusanori,	*Porphyra tenera*	294	364	367	398	4.5
	Garagara,	*Galaxaura fastigiata*	79	144	154	159	4.6
	Makusa,	*Gelidium amansii*	61	76	79	84	1.5
	Pirihiba,	*Corallina pilulifera*	35	67	70	75	3.1
	Mukadenori,	*Grateloupia filicina*	148	206	219	223	8.0
	Kintoki,	*Carpopeltis angusta*	53	99	103	107	2.6
	Mafunori,	*Gloiopeltis tenax*	37	45	49	51	2.3
	Ibaranori,	*Hypnea charoides*	94	122	129	135	6.9
	Kabanori,	*Gracilaria textorii*	153	216	217	223	8.5
	Kainori,	*Gigartina intermedia*	27	49	55	58	2.6
	Tsunomata,	*Chondrus ocellatus*	69	103	108	114	3.0
	Fushitsunagi,	*Lomentaria catenata*	90	125	129	133	10.1
	Ayanishiki,	*Martensia denticulata*	18	27	29	30	1.7
	Makuri,	*Digenea simplex*	85	136	142	144	6.8
	Kobusozo,	*Laurencia undulata*	95	133	136	139	2.8

葉酸にみられるような特に大きな差異は認められなかった．しかし緑藻，褐藻，紅藻の綱別にみると，紅藻類は概してビオチンが少なく，緑藻類および褐藻類に比較して多くのものは約½，中にはそれ以下の含量を示しているものもあるが，アサクサノリは 294mγ/g という今回調査した海藻中最高の含量を示した．これを例外と考えれば，その理由または生理的意義は明らかでないが，藻類の綱別とビオチン含量の間に或る関係が存在しているように思われる．また無水・無灰物，無水・無灰・無脂肪物および主として炭水化物含量と比較するため無水・無灰・無脂肪・無窒素物に対するビオチン含量あるいは窒素に対するビオチン含量などには新しい関係は認められなかった．ただ無水物の場合と同様褐藻に多く紅藻に少ないという傾向はますます顕著にあらわれた．また海藻のビオチン含量は植物性食品中のビオチン含量[13]インゲン98mγ/g，エンドウ180mγ/g，ブドウ31mγ/g，ニンジン210mγ/g，フダンソウ 260mγ/g と比較して同程度で遜色なく，現在食品としてかえりみられなかった海藻の中にもビタミン資源として一考を要するものがあることを知った．

C. 海藻におけるビオチンの形態について

海藻に存在するビオチンは陸上動植物の場合と同様一般に結合型ではないかと考えられるが，このことを確かめるために渡辺ら[6]，福井ら[14]の方法により，2，3の海藻についてビオチンを遊離型と結合型に分けて測定した．即ち試料は摘採後，直ちに蒸溜水を加えてホモジナイズし，10分間煮沸抽出したものについての定量値を遊離型ビオチンとし，前記の如く 2N H_2SO_4 濃度で 15 lbs, 1時間加圧分解したものについての定量値を総ビオチンとし，両者の差を結合型ビオチンとした．その結果は Table 2 の通りである．いずれの海藻にも遊離型，結合型ビオチンの両者が存在し，実験例が少ないので明確ではないが，海藻に存在するビオチンは遊離型，結合型のいずれかに常に著しく偏する傾向はないようである．即ちアオサとタンバノリでは結合型が全体の70%以上を占めているが，シワノカワでは逆に遊離型が全体の60%以上を占めている．

Table 2. Contents of free and conjugated biotin in seaweeds (on dry basis)

Seaweeds	Free form*	Conjugated form**	Total content***
Anaaosa, *Ulva pertusa*	42 mγ/g.	182 mγ/g.	224 mγ/g.
Shiwanokawa, *Petrospongium rugosum*	92	57	149
Tanbanori, *Grateloupia elliptica*	43	122	165

* Determined after heating samples in boiling water bath for 10 minutes.
** Conjugated form indicates the values of total content minus free form.
*** Determined after decomposing samples with 2N H_2SO_4 at 15 lbs. for an hour.

D. 海藻の自己融解によるビオチンの遊離

ビオチンの conjugase は biotinidase として Thoma ら[15]によりブタの肝臓から分離されているが，海藻中におけるこのような conjugase の存否およびその活性度を知るための一つの方法として，アナアオサ，イバラノリのホモジネートにトルオールを加え，8，16，24，48，72，96時間 37°C に放置して自己融解せしめた場合，遊離されるビオチンを測定した．

Table 3. Degree of liberation of biotin in seaweeds by autolysis

Samples	Incubation time of autolysis	Free biotin activity	
Anaaosa, *Ulva pertusa*	0 hrs.	42 mγ/g.	19%
	8	42	19
	16	42	19
	24	42	19
	48	46	21
	72	56	25
	96	59	26
	Hydrolysis*	224	100
Ibaranori, *Hypnea charoides*	0	19	16
	8	18	16
	16	19	16
	24	18	16
	48	23	20
	72	29	25
	96	32	28
	Hydrolysis*	116	100

* Hydrolysis was carried with 2N H_2SO_4 at 15 lbs. for an hour.

その結果は Table 3 の通りで，アナアオサ，イバラノリいずれも自己融解によってはあまり遊離されず，自己融解96時間後においても遊離されるビオチンは総ビオチンのそれぞれ26%および28%にすぎなかった．

3. 小　括

1. 海藻中の結合型ビオチンを遊離型にするには，2N H_2SO_4 で 15 lbs, 1時間加圧分解する方法が適当であることが判ったので，この方法により各種海藻についてビオチン含量を測定した．

2. 緑藻5種，褐藻15種，紅藻15種についてビオチン含量を測定した結果，無水物中緑藻では115～224mγ/g，褐藻では126～282mγ/g，紅藻では18～294mγ/g で，一般に紅藻より緑藻，褐藻の方が高い値を示した．

3. 海藻におけるビオチンは遊離型および結合型の二つの形態で存在する．3例中2例は結合型が70%以上を占めていたが，1例は遊離型が60%以上を占め，従って海藻におけるビオチンの形態には一定の傾向はない．

4. 海藻の自己融解により遊離するビオチンは極めて少なく，藻体内における conjugase 作用は微弱である．

III. ビオチンおよびその類似体

第II節において海藻中のビオチン含量は，陸上植物に比較してかなり高いものがあることを認めたが，*Lactobacillus arabinosus* に対し活性を示す物質が，はたしてビオチンそのものであるかどうかを確かめる目的で，paper partition chromatography (以下 PPC) による bioautography 法を行なった．

ビオチンの PPC に関しては Harrison[16] がフェノール，ブタノール，コリジン・ルチジンでそれぞれ展開後 bioassay によりその移動率を検出した報告を始め，Wright ら[17] は *Asp. niger* の培養沪液のビオチンについて，桑田ら[18]は蚕糞中のビオチンについて，渡辺ら[6)19)]，後藤ら[20]は桂皮，甘草，益母草など生薬中のビオチンについて，福井らは綿[14]および日本産醱酵生産物[21]中のビオチン活性物質について報告している．

著者はこれらの報告にならい海藻中のビオチン活性物質を bioautography により調べた．

1. 実験方法

A. ビオチンの PPC

試料中のビオチン活性物質の PPC は Wright ら[17] に準じて行なった．純ビオチンおよび試料溶液を 20×40cm の東洋沪紙 No. 50 に塗布し，ブタノール・醋酸・水 (4 : 1 : 5) を展開溶剤として，上昇法で約16時間（温度 25±1°C）展開後，その沪紙を一定間隔に切り取り，各切片を蒸溜水で抽出し，その 1cc を検液として *Lactobacillus arabinosus* に対する活性を試験した．

B. ビオチンの bioassay

定量用の基礎培地組成，接種菌，培養温度と時間，標準曲線および測定法などは前節に準じた．

C. 試料調製法

海藻1gを細粉とし，水20ccを加え100°Cの水浴中で1時間加熱抽出した後，抽出液を減圧下に蒸発乾固し，固形物を水に溶かして試料溶液とした．

2. 結果および考察

A. ビオチンの bioautography

ビチオンおよび類似体の *L. arabinosus* に対する活性度と Rf 価は Table 1 の通りである．即ちビオチン-D-スルフォキシド (Biotin-D-sulfoxide) はビオチンと同等の活性を示すが，ビオチン-L-スルフォキシド (Biotin-L-sulfoxide) はビオチンの1/20の活性しか示さない．

Table 1. Activity and Rf value of biotin and its analogues to *Lactobacillus arabinosus*.

Biotin and analogues	Activity to *L. arabinosus*	Rf n-Butanol • Acetic acid • Water (4 : 1 : 5)		
		WRIGHT et al	FUKUI et al	Author
Biotin	100	0.79—0.85	0.7 —0.9	0.80—0.85
Biotin-D-sulfoxide	100	0.57	0.5 —0.6	0.50—0.57
Biotin-L-sulfoxide	5	0.43—0.47	0.4 —0.5	0.40—0.45
Biocytin	—	0.20	0.15—0.20	0.00—0.20

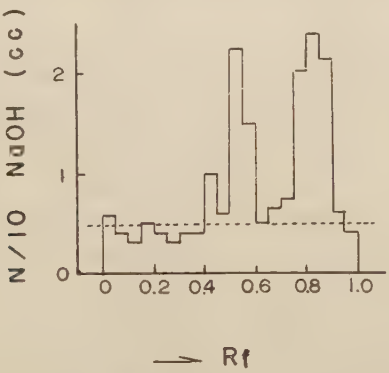


Fig. 1. Bioautography of biotin
Solvent …… n-Butanol•Acetic acid•Water (4 : 1 : 5)

ビオチン結晶の bioautography は Fig. 1 に示す通りで，Rf 0.82 の活性帯はビオチンによるものである．別に Rf 0.54 および 0.45 附近に活性帯が存在するが，この活性はビオチン-D-スルフォキシドおよびビオチン-L-スルフォキシドによるものと考えられる．このようにビオチンの PPC で展開中にDおよびL-スルフォキシドが生成することは WRIGHT ら[17]により証明されたところであるが，著者もはたして展開中に生成したものか，あるいは最初からビオチンに混在していたものか，この点を確かめるため，一度展開させた沪紙よりビオチンの活性帯だけを切り取って抽出し，再び濃縮して bioautography を行なったが，やはりDおよびL-スルフォキシドの活性帯を認めたので，PPC 展開中に生成されたものと判断される．なおこの現象は他の展開溶剤例えば水飽和ブタノールを使用した場合にも同様に観察された．

B. 海藻試料の bioautography

海藻試料溶液につき行なったビオチン活性物質の bioautography は Fig. 2 に示す通りである.

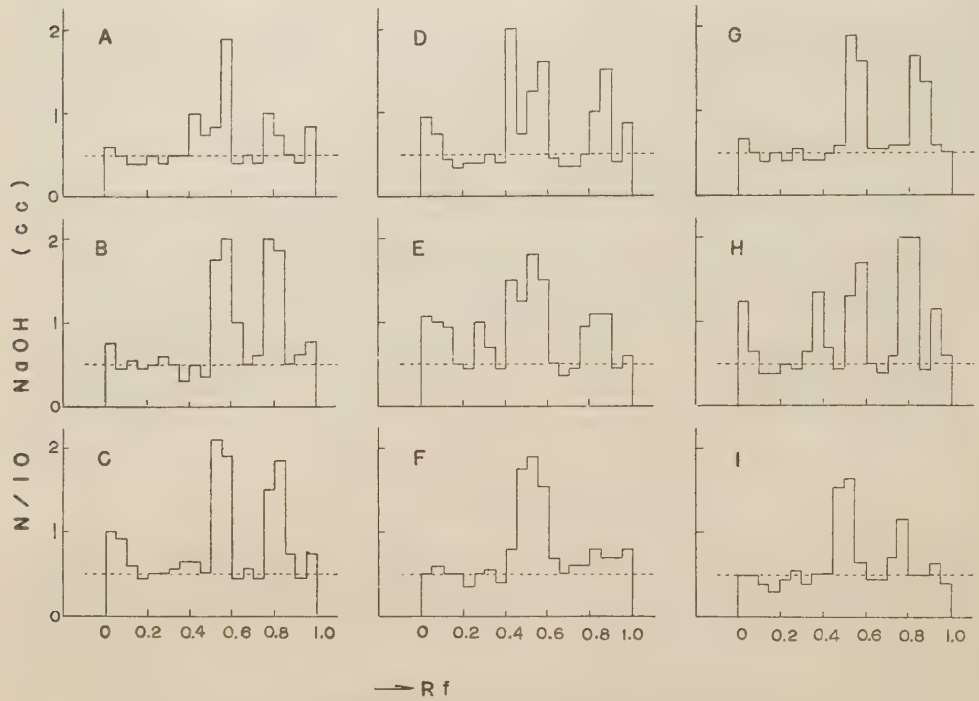


Fig. 2. Bioautography of various biotins in seaweeds

Solvent : n-Butanol•Acetic acid•Water (4 : 1 : 5)

A. Anaaosa, *Ulva pertusa*
B. Usubaaonori, *Entermorpha linza*
C. Sennarizuta, *Caulerpa racemosa*
D. Kayamonori, *Scytosiphon lomentaria*
E. Kajime, *Ecklonia cava*
F. Umitoranoo, *Sargassum thunbergii*
G. Kagiibaranori, *Hypnea japonica*
H. Kabanori, *Gracilaria textorii*
I. Matsunori, *Carpopeltis affinis*

緑藻のアナアオサ(A)ではビオチン，ビオチン-D-スルフォキシド，ビオチン-L-スルフォキシド，ウスバアオノリ(B)ではビオチン，ビオチン-D-スルフォキシド，センナリズタ(C)ではビオチン，ビオチン-D-スルフォキシドの活性帯を認めた．褐藻のカヤモノリ(D)ではビオチン，DおよびL-スルフォキシド，カジメ(E)ではビオチン，DおよびL-スルフォキシド，ウミトラノオ(F)ではD-スルフォキシド，紅藻のカギイバラノリ(G)ではビオチン，D-スルフォキシド，カバノリ(H)ではビオチン，DおよびL-スルフォキシド，マツノリ(I)ではビオチン，D-スルフォキシドを認めた．またセンナリズタ，カヤモノリ，カジメおよびカバノリなどでは原点附近に *L. arabinosus* の成長促進因子があることを認めたが，*L. arabinosus* はビ

オシチン (Biocytin) などの結合型はほとんど利用できないので他の未知因子であろうと思われる．海藻のビオチン活性物質は緑藻，褐藻，紅藻類の綱別ではほとんど差が見られないが，ビオチン-L-スルフォキシドは存在するものとしないものがある．これは *L. arabinosus* に対する活性度が低いため存在しても検出できなかった場合も考えられるが，この点明らかでない．しかし前述の如く PPC に際し，ビオチンからDおよびL-スルフォキシドが生成することは事実であるから，海藻の bioautography は類似し，最初から海藻中に含まれていたものと，展開中にビオチンから酸化生成したものと区別できないわけで，酸化されないような展開方法あるいは個々のビオチン類似体に対し特異性をもつ菌株を用いて分別定量しなければ海藻中のビオチン-D-スルフォキシド，ビオチン-L-スルフォキシドは確認できない．

3. 小　括

1. 純ビオチンの bioautography ではビオチンの他にビオチン-D-スルフォキシドおよびビオチン-L-スルフォキシドの活性帯が認められた．

2. 海藻中のビオチン活性物質としてはビオチンの他Dおよび L-スルフォキシドを認めたが，この両物質は前記のように PPC に際しビオチンから二次的に生成されるので，本来海藻に含まれていたか否かは現在のところ確かでない．

IV. ビオチンおよびその類似体の分別定量法

Wright ら[22),23)]は *Asp. niger* の培養液中にビオチン関連物質として，*Neurospora crassa* に対しては活性を示すが酵母や乳酸菌に対してはほとんど活性を示さない因子を発見し，本物質が Melville ら[24),25)]が研究したビオチン-L-スルフォキシド (Biotin-L-sulfoxide) と同一物であることを明らかにし，一方 Wright 氏ら[17)]は paper partition chromatography (以下 PPC と記す) の展開中ビオチンの酸化によってビオチン-D-スルフォキシド (Biotin-D-sulfoxide) が生成されることを証明した．

著者は前節において海藻中にビオチンの他ビオチン-D-スルフォキシド，ビオチン-L-スルフォキシドの活性を認めたが，後二者は PPC に際しビオチンからも生成するので，この両物質が最初から海藻中に含まれていたものか，それとも PPC 展開中にビオチンが酸化されて生成したものか判別できなかった．しかるにこれら物質が *Lactobacillus casei*, *Saccharomyces carlsbergensis* および *Neurospora crassa* の3種の菌に対する活性度に差異があることから，著者はそれを利用した分別定量を考案吟味したところ，ビオチン，Dおよび L-スルフォキシドの分別定量法として使用しうることを明らかにしたので，本法により海藻中のビオチン活性3物質の含量を決定することができた．

1. 実験の部

A. ビオチン活性物質の bioassay

(1) Lactobacillus casei を用いる定量法：*L. casei* (ATCC No. 7469) による定量は Shull ら[26),27)]の方法により行なった．bioassay はすべて常法に従い，培養は 37°C で72時間，測定は酸滴定法によった．

(2) Saccharomyces carlsbergensis を用いる定量法：*Sac. carlsbergensis* による定量には Atkin ら[28),29)]，福井ら[30)]，谷[31)]の研究があるが，主として Atkin ら，福井らの方法に

よった．菌株は *Sac. carlsbergensis* 4228 (ATCC No. 9080) を使用し，培養法は基礎培地5cc に標準液と被検液を加えて 9cc として10分間蒸気殺菌し，あらかじめ麦芽汁寒天培地に30°Cで24時間培養した *Sac. carlsbergensis* の菌体を数回洗滌し，食塩水中に一定濃度となるよう懸濁した接種菌液 1cc を加え，約20度に傾斜し，30°C で16時間培養後比濁によって測定した．

(3) Neurospora crassa を用いる定量法：*Neurospora crassa* による定量法には Horowitz ら[32]，Hodson[33]，Tatum ら[34] の研究があるが，主として Horowitz らの方法に従った．菌株は *Neurospora crassa* (ATCC No. 10336) を用い，培養法は 50cc の三角フラスコに基礎培地 5cc を入れ，標準液または試料を加えて総量を 10cc とした．15 lbs で10分滅菌後，あらかじめ麦芽汁寒天培地に30°C で72時間培養した *Neurospora crassa* の胞子懸濁液 1 滴を接種し，25°～27°C に 3 日間培養した．培養後100°C に10分間蒸気殺菌し，菌体を沪別し，水洗後95°Cに 2 時間乾燥して菌体重量を測定した．

B. 試料調製

海藻は摘採後直ちに蒸溜水を加えてホモジナイズし，10分間煮沸抽出したものについての測定値を遊離型とし，2N H_2SO_4 で 15 lbs，1 時間加圧分解したものについての測定値を総量，両者の差を結合型とした．

2. ビオチン活性 3 物質の新分別定量法と本法による定量結果

A. 各菌株に対するビオチンおよび類似体の活性度

L. casei, *Sac. carlsbergensis* および *Neurospora crassa* 3 種の菌株に対するビオチン，ビオチン-D-スルフォキシドおよびビオチン-L-スルフォキシドの活性度は Table 1 に示す通りで，ビオチン-D-スルフォキシドは *L. casei* に対しては活性を示さないが，*Sac. carlsbergensis* と *Neurospora crassa* に対してはビオチンと同等の活性度を示す．ビオチン-L-スルフォキシドは *L. casei* に対してはビオチンの1/20，*Sac. carlsbergensis* に対しては活性なく，*Neurospora crassa* に対してはビオチンと同等である．またこれらビオチンおよび類似体に対する各菌株の，生長曲線は大体一致していたので，新定量法における各菌株の生長曲線はビオチンの生長曲線を使用した．

Table 1. Activity of biotin and its analogues to assay organisms

Biotin and analogues	*Lactobacillus casei*	*Saccharomyces carlsbergensis*	*Neurospora crassa*
Biotin	100	100	100
Biotin-D-sulfoxide	0	100	100
Biotin-L-sulfoxide	5	0	100

B. 新分別定量法による 3 種のビオチン活性物質の算出式

Neurospora crassa, *Sac. carlsbergensis* および *L. casei* の各菌株を用いて測定したビオチン活性物質の定量値を次の如くそれぞれA，B，Cとすれば

Neurospora crassa……A

Saccharomyces carlsbergensis……B

Lactobacillus casei C

各菌株に対する活性度から

$$\text{Biotin-L-sulfoxide} = A - B$$

$$\text{Biotin} = C - \frac{(A-B)}{20}$$

$$\text{Biotin-D-sulfoxide} = B - \left\{C - \frac{(A-B)}{20}\right\}$$

よって次にビオチン，DおよびL-スルフォキシドの既知組成混合物について，本法による回収試験を行なった結果 Table 2 に示した通り，93～120% の回収率を以て測定することができた．従って本法は従来適当な測定法なく，PPC でも分別できなかったビオチン活性物質の分別定量法として使用できることが判った．ただDおよびL-スルフォキシド以外のビオチン活性物質としてデスチオビオチン (Desthiobiotin)[35),36),37),38)]，ビオシチン (Biocytin)[39),40),41),17)] などが天然に存在するがこれまで知られた範囲ではその分布も限られ，またその量も一般に極めて少ないことから，この場合考慮の要は少ないと思われる．

Table 2. Separate assay of a mixture of three biotin, homologues, i. e., biotin, biotin-D-sulfoxide and biotin-L-sulfoxide

Sampling* (mγ/cc.)				Measured value (mγ/cc.)			Calculated value** (mγ/cc.)			Recovery (%)		
No. of samples	Biotin	Biotin -D-sulfoxide	Biotin -L-sulfoxide	*L. casei*	*S.carlsbergensis*	*N. crassa*	Biotin	Biotin -D-sulfoxide	Biotin -L-sulfoxide	Biotin	Biotin -D-sulfoxide	Biotin -L-sulfoxide
1	0.050	0.050	0.050	0.060	0.105	0.163	0.057	0.048	0.058	114	96	116
2	0.080	0.040	0.020	0.075	0.122	0.146	0.074	0.048	0.024	93	120	120

* A mixture of chemically pure biotins

** Values for each homologue calculated from responses to three assay organisms

C. 海藻中のビオチン，DおよびL-スルフォキシド含量

次にこのように設定したビオチン，DおよびL-スルフォキシドの新分別定量法により，bioautography で確認できなかった海藻中のビオチン群を測定した．その結果は Table 3 に見られるように，海藻中にはビオチン-L-スルフォキシドが総量として無水物中 113～1090mγ/g で最も多く，ビオチン-D-スルフォキシドが 25～149mγ/g でこれに次ぎ，ビオチンは 0～86 mγ/g で最も少なかった．なかでも遊離型は特にビオチンが少なく，検出されないものも少なくないので，海藻ではビオチンは主としてビオチン-L-スルフォキシドなどの型で存在することがわかる．また結合型と遊離型とでは一般に前者の方が多く含まれているが，稀れには遊離型の方が多いものもあった．また遊離型，結合型，いずれも海藻の綱別即ち緑藻，褐藻，紅藻の間に明瞭な差異は認められなかった．

Table 3. Biotin-, biotin-D-sulfoxide- and biotin-L-sulfoxide-contents of seaweeds (on dry basis)

	Seaweeds	Biotin-L-sulfoxide (mγ/g.)			Biotin-D-sulfoxide (mγ/g.)			Biotin (mγ/g.)		
		Free form	Conjugated form	Total content	Free form	Conjugated form	Total content	Free form	Conjugated form	Total content
Chlorophyceae	Usubaaonori, *Enteromorpha linza*	44	69	113	15	10	25	0	61	61
	Fusaiwazuta, *Caulerpa okamurai*	197	219	416	18	34	52	8	68	76
	Midorige, *Cladophoropsis zollingeri*	74	133	207	5	63	68	19	67	86
Phaeophyceae	Kagomenori, *Hydroclathrus clathratus*	212	107	319	46	103	149	0	5	5
	Kajime, *Ecklonia cava*	211	879	1090	45	61	106	4	36	40
	Yatsumatamoku, *Sargassum patens*	144	171	315	60	22	82	0	28	28
Rhodophyceae	Naminohana, *Chondrococcus japonicus*	98	45	143	38	40	78	0	4	4
	Makuri, *Digenea simplex*	83	190	273	29	42	71	0	0	0
	Mitsudesozo, *Laurencia okamurai*	109	171	280	12	13	25	0	7	7

3. 小　括

L. casei, *Sac. carlsbergensis* および *Neurospora crassa* 各菌に対するビオチン，ビオチン-D-スルフォキシドおよびビオチン-L-スルフォキシドの活性度の差異を利用したこれら3物質の新分別定量法を考案し，その方法によって海藻中のビオチン活性物質を分別定量した．

1. 新分別定量法は前記各菌株によるビオチン活性物質の定量値を次の如くA，B，Cとし下式によって算出するものである．

Neurospora crassa……A

Sac. carlsbergensis ……B

L. casei ……C

$$\text{Biotin-L-sulfoxide} = A - B$$

$$\text{Biotin} = C - \frac{(A-B)}{20}$$

$$\text{Biotin-D-sulfoxide} = B - \left\{C - \frac{(A-B)}{20}\right\}$$

2. この方法により測定の結果，海藻中にはビオチン-L-スルフォキシドが最も多く，ビオチン-D-スルフォキシドがこれに次ぎ，ビオチンが最も少なかった．またその含量には

海藻の綱別による明瞭な差異は認められなかった．

V. コリンおよびイノシトール

コリン (Choline) はメチル基転移の一端をにない，イノシトール (Inositol) は脂肪やコレステロールの代謝と関係し，この両者はいずれも生化学上重要な意義を有しているためビタミンB群の一員に数えられ，最近研究の進展と共にその生理的意義はますます重要視されつつある．しかし海藻中のコリンおよびイノシトールに関する研究は極めて少なく，古くZELLER[42]，荻野[43),44)]によってコリンの存在が定性的に報告されているに過ぎない．よって四十数種の海藻についてこの両ビタミンの分布ならびに形態について研究した．

1. 実験方法

A. 定量法

(1) コリンの定量法：コリンの定量にはHOROWITZら[32)]，HODSON[33)]，TATUMら[34)]の研究があるが，本法では主としてHOROWITZらの方法に従った．菌株は *Neurospora crassa* No. 34486 (ATCC 9277) を用いた．実施方法は50ccの三角フラスコに基礎培地5ccを入れ標準液または試料を加えて総量を10ccとし，15 lbsで10分間滅菌後，あらかじめ麦芽汁寒天斜面（基礎培地＋寒天1.5%，酵母エキス0.2%，麦芽エキス0.2%，コリン1γ/cc）に30°Cで72時間培養した *Neurospora crassa* の胞子懸濁液1滴を接種し，28°Cで3日間培養した．培養後100°Cで5分間蒸気加熱し，菌体をブフナー漏斗で沪過し，水洗後95°Cに2時間乾燥して重量を測定した．

(2) イノシトールの定量法：イノシトールの定量はATKINら[29),45)]の方法によった．菌株は *Saccharomyces carlsbergensis* 4428 (ATCC No. 9080) を用い，基礎培地はATKINらのものを若干改良した福井ら[30)]および谷ら[31)]のものを使用した．実施法は基礎培地5ccに標準液または試料を入れ，水を加えて9ccとし，10分間蒸気殺菌し，あらかじめ麦芽汁寒天斜面に30°Cで24時間培養した *Sac. carlsbergensis* の菌体を生理食塩水で洗滌したのち，食塩水中一定濃度になるよう懸濁した接種用菌1ccを注加し，25度以下の角度に傾斜し，30°Cで16時間培養した場合の繁殖度を比濁によって測定した．

天然に存在するイノシトールはメソ-イノシトールのみでなく，シリトール (Scyllitol)，D-イノシトール，L-イノシトールも発見されているが，メソ-イノシトールが最も普遍的である．またメソ-イノシトールは酵母の発育に有効であるが，他のイノシトールはほとんど無効であるから *Sac. carlsbergensis* により測定した値はメソ-イノシトールの含量を示すものである．

B. 試料調製法

(1) コリン定量用試料の調製：海藻0.2gに3% H_2SO_4 10ccを加え，15 lbsで2時間加圧分解する．冷却後飽和 $Ba(OH)_2$ で中和，遠沈沪別し，上清液をNaOHで中和したのち，25～100ccとする．試料中にメチオニンが多く存在すると妨害作用を示すので，この場合はパームチット処理を行なった．即ちパームチット1gをつめたカラムに試料溶液5ccを通し，0.3% NaCl液で洗い，次に5% NaCl 10ccで完全に溶出した．かくして得た試料についての測定値はコリン総量を示す．

(2) イノシトール定量用試料の調製：海藻 1g に18% HCl 20cc を加え，逆流冷却管をつけて6時間煮沸後，沪液を減圧濃縮して塩酸を反覆除去し，NaOH で中和して 100cc とした．この試料についての定量値はメソ-イノシトールの総量を示す．

2. 結果および考察

A. 海藻中のコリンおよびメソ-イノシトール含量

海藻中のコリンおよびメソ-イノシトールの総量を測定した結果は Table 1 の通りである．

(1) 海藻中のコリン総量：海藻中のコリン総量は無水物中緑藻34～358 γ/g，褐藻24～636

Table 1. Choline- and inositol-contents of seaweeds (on dry basis)

	Seaweeds		Choline content (γ/g.)	Inositol content (γ/g.)
Chlorophyceae	Anaaosa,	*Ulva pertusa*	61	330
	Ribonaosa,	〃 *fasciata*	34	82
	Kikkogusa,	*Dictyosphaeria cavernosa*	241	339
	Hosojuzumo,	*Chaetomorpha crassa*	34	228
	Sennarizuta,	*Caulerpa racemosa*	358	584
Phaeophyceae	Amijigusa,	*Dictyota dichotoma*	77	125
	Komongusa,	*Spathoglossum pacificum*	87	114
	Shiwayahazu,	*Dictyopteris undulata*	35	40
	Herayahazu,	〃 *prolifera*	242	151
	Umiuchiwa,	*Padina arborescens*	27	690
	Ishige,	*Ishige okamurai*	636	298
	Iwahige,	*Myelophycus caespitosus*	618	1131
	Fukuronori,	*Colpomenia sinuosa*	406	116
	Kagomenori,	*Hydroclathrus clathratus*	49	408
	Kajime,	*Ecklonia cava*	262	379
	Hijiki,	*Hizikia fusiforme*	33	328
	Mametawara,	*Sargassum piluliferum*	37	50
	Nokogirimoku,	〃 *serratifolium*	62	132
	Oobamoku,	〃 *ringgoldianum*	71	72
	Umitoranoo,	〃 *thunbergii*	28	566
	Isomoku,	〃 *hemiphyllum*	145	467
	Narasamo,	〃 *nigrifolium*	24	197
Rhodophyceae	Hiragaragara,	*Galaxaura falcata*	44	70
	Makusa,	*Gelidium amansii*	4885	443
	Naminohana,	*Chondrococcus japonicus*	1337	449
	Himemosazuki,	*Jania decussato-dichotoma*	113	35
	Sujimukade,	*Grateloupia ramosissima*	1119	55
	Tanbanori,	〃 *elliptica*	952	209
	Chabokintoki,	*Carpopeltis rigida*	349	120
	Matsunori,	〃 *affinis*	225	20
	Fukurofunori,	*Gloiopeltis furcata*	1261	301
	Mafunori,	〃 *tenax*	319	163
	Kagiibaranori,	*Hypnea japonica*	688	346
	Ibaranori,	〃 *charoides*	636	257
	Kabanori,	*Gracilaria textorii*	230	668
	Okitsunori,	*Gymnogongrus flabelliformis*	546	322
	Shikinnori,	*Gigartina teedii*	237	145
	Tsunomata,	*Chondrus ocellatus*	856	111
	Fushitsunagi,	*Lomentaria catenata*	240	263
	Makuri,	*Digenea simplex*	87	30
	Mitsudesozo,	*Laurencia okamurai*	1346	89
	Kobusozo,	〃 *undulata*	593	66

γ/g，紅藻87～4885γ/gで，緑藻は測定例が少ないので明らかでないが褐藻と紅藻を比較すると紅藻には褐藻の約3～10倍多く存在する．またこれまで報告されている陸上の植物体における含量[46]，例えば乾物中ホウレンソウ2380γ/g，トマト0γ/g，トウモロコシ340γ/g，ニンジン450γ/g，パレイショ670γ/gなどと比較すると，海藻のコリン含量はこれらと同等かあるいはそれを上廻るものが多かった．

(2) 海藻中のメソ-イノシトール総量：海藻中のメソ-イノシトール総量は無水物中緑藻82～584γ/g，褐藻40～1131γ/g，紅藻20～668γ/gで，コリンのように緑藻，褐藻，紅藻の綱別による含量の差異は認められなかった．また植物性食品のイノシトール含量[47]（新鮮物）ホウレンソウ270γ/g，トマト460γ/g，トウモロコシ500γ/g，ニンジン480γ/g，パレイショ290γ/gおよび魚類のイノシトール含量[48] カツオ普通肉435γ/g，血合肉843γ/gと比較して，海藻のイノシトール含量は一般に若干少なかった．

B. 海藻中におけるコリンおよびメソ-イノシトールの形態

天然界においてコリンはレシチンの成分として，またイノシトールはフィチンとして存在しているほか遊離型としても存在する．前項においては海藻中のコリンおよびメソ-イノシトールを総量として測定したが，海藻中にも結合型および遊離型両者が存在するものと予想してこれらを分別定量した．即ち総量から遊離型を差引いた値を結合型とする方法によった．遊離型コリンの定量はLUECKEら[49]の方法に従った．即ち海藻試料2gを破砕し1%酢酸ソーダ50ccに懸濁し，pH 4.6とし，1時間80～100°Cに保ったのち遠心分離する．この上澄液に2倍量のアセトンを加え，2時間氷冷してレシチンなどを析出沈澱せしめる．上澄液からアセトンを除き，適当に稀釈し，パームチット処理を行なったのち前記のbioassay法によって定量した．

遊離型メソ-イノシトールの定量は福井ら[14]の方法によった．即ち蒸溜水を加えて10分間煮沸した抽出液について活性度を前記のbioassay法により測定した．

Table 2. Choline- and meso-inositol-contents of seaweeds (on dry basis)

	Seaweeds	Choline content (γ/g.)			Inositol content (γ/g.)		
		Free form	Conjugated form	Total content	Free form	Conjugated form	Total content
Chlorophyceae	Anaaosa, *Ulva pertusa*	6	59	65	174	228	402
	Midorige, *Cladophoropsis zollingeri*	5	90	95	0	158	158
	Fusaiwazuta, *Caulerpa okamurai*	6	299	305	138	332	470
Phaeophyceae	Iwahige, *Myelophycus caespitosus*	8	642	650	109	1105	1214
	Kajime, *Ecklonia cava*	5	305	310	216	202	418
	Futaemoku, *Sargassum duplicatum*	8	467	475	72	96	168
Rhodophyceae	Asakusanori, *Porphyra tenera*	130	2485	2615	13	35	48
	Makusa, *Gelidium amansii*	125	3410	3535	166	205	371
	Mafunori, *Gloiopeltis tenax*	3	208	211	26	158	184
	Kabanori, *Gracilaria textorii*	7	158	165	145	369	514

数種の海藻について測定した遊離型コリンおよび遊離型メソ-イノシトールの含量はTable 2 に示したように，海藻中における遊離型コリン含量は極めて少なく，大部分が結合型であるのに対し，メソ-イノシトールは遊離型がかなり多く，なかには結合型と同量程度のものもあった．

3. 小　括

主として本邦南海域で採集した約50種の海藻についてコリンおよびメソ-イノシトール含量を測定した．

1. コリン総量は無水物中数十γ～数千γ/g で，紅藻類が褐藻より大きい値を示した．
2. メソ-イノシトール総量は無水物中数十γ～数百γ/g で，コリンのような褐藻，紅藻の綱別による差異は認められなかった．
3. 海藻中のコリンおよびメソ-イノシトール含量は陸上植物[46),47)]と比較した場合，コリン含量は同等かそれを上廻るが，メソ-イノシトール含量は一般に少なかった．
4. 海藻中のコリンは遊離型のものは極めて少ないが，メソ-イノシトールは遊離型もかなり多く結合型と同量程度のものも多かった．

VI. チアミン，リボフラビン，ニコチン酸およびパントテン酸

チアミン (Thiamine) は動植物組織中においては遊離型およびエステル型として存在するが，一般に生体内では大部分がエステル化している．海藻中のチアミン含量については藤田[50)]がアサクサノリなど2，3の海藻について，また最近三田[51)]がアオノリおよびアナアオサ中の含量について報告している．

リボフラビン (Riboflavin) は動植物組織中にはエステル型が大部分であるが，なかには遊離型のみのものもある．海藻中のリボフラビンについては古く Heilbron ら[52)]は褐藻 *Fucus vesiculosus* からルミフラビンを，淡水緑藻 *Cladophora sauteri* からラクトフラビンのアセチール化合物を分離し，また渡辺[53)]はルミフラビン法で57種の藻類について定量し，辻村ら[54)]はワカメ，コンブ，アマノリなど十数種の海藻についてリボフラビン含量を測定している．

ニコチン酸 (Nicotinic acid) は動植物中に遊離型および結合型として存在し，ニコチンアミド，Coenzyme I, Coenzyme II などが知られているが，海藻中のニコチン酸についてはほとんど研究がなく，藤田[55)]が本邦加工食品として2，3の海藻につきその含量を報告しているにすぎない．

パントテン酸 (Pantothenic acid) は動植物中に多く結合型として存在し，Coenzyme A, *L. burgaricus* 因子および Pantothenic acid conjugated form が知られているが，海藻中のパントテン酸については報告されていないようである．

著者は数十種の海藻についてチアミン，リボフラビン，ニコチン酸およびパントテン酸の含量を測定し，他の植物性食品含量などと比較検討した．

1. 実験方法

A. 定量法

(1) チアミン：チアミンの *L. fermenti* 36を用いる定量は Sarett ら[56)]，Bennett ら[57)]により研究されているが，本法では主として Sarett ら[56)]の方法によった．培養は35°C で16

～18時間，培養後比濁により測定した．

(2) リボフラビン：リボフラビンの *L. casei* を用いる定量は Snell ら[58]，Roberts ら[59]により研究されているが，本法では主として Roberts ら[59]の方法によった．培養は37°Cで72時間，培養後滴定により測定した．

(3) ニコチン酸：ニコチン酸の *L. arabinosus* 17-5 を用いる定量は Snell ら[60]，Krehl ら[61]，Barton-Wright[62]，Sarett ら[63]により研究されているが，本法では主として Krehl ら[61]の方法によった．培養は37°Cで72時間，培養後酸滴定により測定した．

(4) パントテン酸：パントテン酸の *L. arabinosus* 17-5 を用いる定量は Snell ら[60]，Skeggs ら[64]，Hoag ら[65]により研究されているが，本法では主として Skeggs ら[64]の方法によった．培養は37°C で72時間，培養後滴定により測定した．

B. 試料の調製

海藻試料は鹿児島県薩摩半島南端長崎鼻および鹿児島市付近で摘採し，直ちに氷冷して持ち帰えり実験に供した．海藻中のチアミン，リボフラビン，ニコチン酸およびパントテン酸含量は結合型を分解して遊離型となし，すべてこれらのビタミン総量として定量した．各ビタミンを遊離型とするには，次の如く陸上動植物で採られている方法に準じて行なった．

(1) チアミン：Sarett ら[56]の方法に従った．試料約 4g を精秤し，10倍量の N/10 H_2SO_4 を加え沸騰水中で30分間加熱したのち，0.5% の醋酸ナトリウム溶液を加えて pH 4.5 となし，これにタカジアスターゼ200mgを加え37°C に24時間保ち酵素分解を行なったのち，pH 6.6に調整し定量に供した．

(2) リボフラビン：Strong ら[66]の方法によった．試料を N/10 HCl で 15 lbs，15分間加圧分解し，冷後 pH 4.5として沪過し，さらに pH を6.8に調整して検液とした．

(3) ニコチン酸：Krehl ら[61]，Sarett ら[63]の方法によった．試料 1g を N H_2SO_4 10cc に溶解し，15 lbs，30分間加圧分解したのち，pH を6.8に調整し，100cc となし，沪過して検液とした．

(4) パントテン酸：Neilands ら[67]，Kaplan ら[68]，Toepfer ら[69]の方法があるが，主として Kaplan らの方法に従った．即ち磨砕した試料 2g に10cc の1M "Tris" 緩衝液 (pH 8.3) Tris-(hydroxymethyl) aminomethane と20cc の水を加え，15 lbs で15分分解し水を加えて 200cc とする．この 1cc に 0.1M $NaHCO_3$ 緩衝液 0.1cc，2%腸（コウシ）フォスファターゼ0.4cc，1%ニワトリ肝臓溶液（イオン交換樹脂処理）0.2cc を加え，さらに水を加えて2cc とし，トルオールを加えて 37°C に4時間作用させ，100cc にしたのち沪過し検液とした．

2. 結果および考察

数十種の海藻について測定したチアミン，リボフラビン，ニコチン酸およびパントテン酸の総量は Table 1 および 2 の通りである．

A. 海藻中のチアミン含量

海藻のチアミン含量は緑藻0.29～1.50γ/g，褐藻0.27～1.10γ/g，紅藻0.04～4.60γ/g，で紅藻類が最も多く，次いで緑藻類，褐藻類の順であった．これらチアミン含量は藤田[50]が測定したアサクサノリ0.82γ/g，コンブ0.86γ/g，ワカメ0.26γ/g，アラメ0.73γ/g の値とほぼ

Table 1. Total thiamine- and riboflavin-contents of seaweeds (on dry basis)

	Species		Thiamine content (γ/g.)	Riboflavin content (γ/g.)
Chlorophyceae	Anaaosa,	*Ulva pertusa*	0. 90	2. 80
	Ribonaosa,	〃 *fasciata*	0. 57	3. 74
	Usubaaonori,	*Enteromorpha linza*	1. 50	1. 20
	Midorige,	*Cladophoropsis zollingeri*	0. 54	2. 49
	Sennarizuta,	*Caulerpa racemosa*	0. 78	1. 97
	Kokeiwazuta,	〃 *webbiana*	0. 29	3. 42
	Fusaiwazuta,	〃 *okamurai*	0. 80	7. 23
Phaeophyceae	Amijigusa,	*Dictyota dichotoma*	0. 75	6. 14
	Komongusa,	*Spathoglossum pacificum*	0. 36	0. 84
	Sanadagusa,	*Pachydictyon coriaceum*	0. 53	4. 09
	Umiuchiwa,	*Padina arborescens*	0. 29	0. 98
	Ishige,	*Ishige okamurai*	0. 62	6. 25
	Iwahige,	*Myelophycus caespitosus*	0. 27	3. 06
	Kagomenori,	*Hydroclathrus clathratus*	0. 34	2. 80
	Makonbu,	*Laminaria japonica*	0. 51	4. 68
	Kajime,	*Ecklonia cava*	1. 10	2. 50
	Hijiki,	*Hizikia fusiforme*	0. 28	2. 67
	Mametawara,	*Sargassum piluliferum*	0. 60	4. 88
	Yatsumatamoku,	〃 *patens*	0. 80	5. 22
	Nokogirimoku,	〃 *serratifolium*	0. 29	2. 17
	Oobamoku,	〃 *ringgoldianum*	0. 31	5. 74
	Hondawara,	〃 *fulvellum*	0. 30	5. 03
	Umitoranoo,	〃 *thunbergii*	0. 38	5. 30
	Narasamo,	〃 *nigrifolium*	0. 40	6. 21
Rhodophyceae	Benimozuku,	*Helminthocladia australis*	0. 54	5. 16
	Garagara,	*Galaxaura fastigiata*	0. 97	1. 98
	Makusa,	*Gelidium amansii*	1. 60	17. 95
	Hosobanaminohana,	*Chondrococcus hornemanni*	1. 41	10. 52
	Pirihiba,	*Corallina pilulifera*	0. 09	0. 45
	Himemosazuki,	*Jania decussato-dichotoma*	0. 04	0. 38
	Fuirigusa,	*Halymenia dilatata*	1. 04	7. 60
	Sujimukade,	*Grateloupia ramosissima*	1. 38	6. 27
	Kintoki,	*Carpopeltis angusta*	0. 64	5. 22
	Matsunori,	〃 *affinis*	1. 86	4. 70
	Fukurofunori,	*Gloiopeltis furcata*	0. 28	1. 21
	Mafunori,	〃 *tenax*	2. 45	14. 69
	Tosakanori,	*Meristotheca papulosa*	0. 66	3. 15
	Kagiibaranori,	*Hypnea japonica*	1. 32	1. 26
	Ibaranori,	〃 *charoides*	1. 42	2. 90
	Ooogonori,	*Gracilaria gigas*	1. 80	1. 04
	Kabanori,	〃 *textorii*	4. 60	6. 92
	Tsunomata,	*Chondrus ocellatus*	2. 19	14. 73
	Makuri,	*Digenea simplex*	0. 41	5. 87
	Mitsudesozo,	*Laurencia okamurai*	0. 53	10. 22
	Kobusozo,	〃 *undulata*	0. 21	1. 18

一致するが，三田[51]の測定したアナアオサ 3.07～7.22γ/g，アオノリ1.17～8.89γ/g の値と比較すると低い．海藻中のチアミン含量と日常食用に供している野菜類や果実類のチアミン含量[70]例えば，パレイショ2.95γ/g，ニンジン7.42γ/g，チシャ 2.7γ/g，キャベツ9.67γ/g，リンゴ1.05γ/g と比較すると，紅藻類はほぼ同程度であるが，褐藻類は低かった．

B. 海藻中のリボフラビン含量

海藻中のリボフラビン含量は緑藻1.20～7.23γ/g，褐藻0.84～6.25γ/g，紅藻0.38～17.95

Table 2. Total nicotinic acid-and pantothenic acid-contents of seaweeds (on dry basis)

	Species		Nicotinic acid content (γ/g.)	Pantothenic acid content (γ/g.)
Chlorophyceae	Anaaosa,	*Ulva pertusa*	7.50	2.35
	Ribonaosa,	〃 *fasciata*	2.12	1.49
	Kikkogusa,	*Dictyosphaeria cavernosa*	10.41	9.05
	Hosojuzumo,	*Chaetomorpha crassa*	5.95	3.10
	Sennarizuta,	*Caulerpa racemosa*	21.18	5.53
Phaeophyceae	Amijigusa,	*Dictyota dichotoma*	15.20	0.73
	Komongusa,	*Spathoglossum pacificum*	25.21	0.29
	Shiwayahazu,	*Dictyopteris undulata*	15.71	0
	Herayahazu,	〃 *prolifera*	18.02	3.78
	Umiuchiwa,	*Padina arborescens*	8.86	1.74
	Ishige,	*Ishige okamurai*	15.87	3.50
	Iwahige,	*Myelophycus caespitosus*	14.17	3.15
	Fukuronori,	*Colpomenia sinuosa*	5.13	2.92
	Kagomenori,	*Hydroclathrus clathratus*	3.15	3.07
	Kajime,	*Ecklonia cava*	18.84	0.49
	Hijiki,	*Hizikia fusiforme*	6.80	1.40
	Mametawara,	*Sargassum piluliferum*	10.14	0.40
	Nokogirimoku,	〃 *serratifolium*	21.51	0.45
	Oobamoku,	〃 *ringgoldianum*	16.53	4.21
	Umitoranoo,	〃 *thunbergii*	4.49	8.76
	Isomoku,	〃 *hemiphyllum*	8.71	0.64
	Narasamo,	〃 *nigrifolium*	17.18	0.49
Rhodophyceae	Hiragaragara,	*Galaxaura falcata*	8.90	7.30
	Makusa,	*Gelidium amansii*	20.10	1.22
	Naminohana,	*Chondrococcus japonicus*	8.15	1.30
	Sangomo,	*Corallina officinalis*	3.45	5.68
	Himemosazuki,	*Jania decussato-dichotoma*	2.00	2.17
	Sujimukade,	*Grateloupia ramosissima*	24.46	2.32
	Tanbanori,	〃 *elliptica*	35.89	1.99
	Kintoki,	*Carpopeltis angusta*	16.90	4.60
	Matsunori,	〃 *affinis*	3.16	1.38
	Fukurofunori,	*Gloiopeltis furcata*	25.34	6.71
	Mafunori,	〃 *tenax*	23.79	5.85
	Kagiibaranori,	*Hypnea japonica*	19.92	11.10
	Ibaranori,	〃 *charoides*	21.50	6.82
	Ogonori,	*Gracilaria verrucosa*	7.81	1.83
	Kabanori,	〃 *textorii*	33.90	9.73
	Okitsunori,	*Gymnogongrus flabelliformis*	2.46	2.07
	Shikinnori,	*Gigartina teedii*	4.78	1.50
	Tsunomata,	*Chondrus ocellatus*	29.65	7.04
	Fushitsunagi,	*Lomentaria catenata*	24.24	12.21
	Makuri,	*Digenea simplex*	12.42	5.36
	Mitsudesozo,	*Laurencia okamurai*	39.07	8.97
	Kobusozo,	〃 *undulata*	26.86	4.46

γ/g で，紅藻は緑藻，褐藻より多く，約3倍含まれていた．これらリボフラビン含量は渡辺[53]のルミフラビン法により測定した紅藻（26種）の平均値0.24γ/g，褐藻（26種），緑藻（5種）の平均値0.14γ/g より高い値を示し，辻村ら[54]の測定したコンブ，ワカメなどの含量1.0～37.0γ/g とほぼ一致している．また[71]オレンジ2.2γ/g，リンゴ0.71γ/g，カブ3.44γ/g，キャベツ3.28γ/g，ニンジン3.38γ/gなど野菜類，果実類と比較すると，海藻中のリボフラビンは同程度から約3倍の含量を示している．

C. 海藻中のニコチン酸含量

海藻中のニコチン酸含量は緑藻2.1～21.1γ/g，褐藻3.1～25.2γ/g，紅藻2.0～39.0γ/gで，いずれも近似した値を示したが，紅藻類は緑藻類，褐藻類よりやや多い傾向がある．海藻中のニコチン酸と日常食用に供している野菜類，果実類[72]例えば，エンドウ10.0γ/g，ニンジン22.0γ/g，アンズ25.1γ/g，リンゴ5.6γ/g，オレンジ18.6γ/gとを比較してみると，海藻中のニコチン酸含量は野菜類のものと同程度かそれを上廻るものが多かった．

D. 海藻中のパントテン酸含量

海藻中のパントテン酸含量は緑藻1.4～9.0γ/g，褐藻0～8.7γ/g，紅藻1.2～12.2γ/gで，紅藻類は褐藻類と比較して，約2倍高い含量を示した．また海藻中のパントテン酸含量と本邦食品[73]例えば，アスパラガス1.2γ/g，フダンソウ14γ/g，ホウレンソウ17γ/g，リンゴ4.1γ/gなどと比較すると，海藻中のパントテン酸含量はほぼこれらに匹敵する値を示している．

著者は以上数十種の海藻についてチアミン，リボフラビン，ニコチン酸およびパントテン酸の総含量を定量したが，日常食用に供している野菜類，果実類[70),71),72),73)]と比較して，チアミンが若干低い値を示したのみで，リボフラビン，ニコチン酸およびパントテン酸は同程度か，あるいはそれを上廻り，特にリボフラビンは陸上植物性食品の3倍程度含まれているものが多く，ビタミン資源として有望であることが判った．

3. 小　括

海藻中（50種）のチアミン，リボフラビン，ニコチン酸およびパントテン酸含量を測定し次の結果を得た．

1. チアミン含量は0.04～4.60γ/gで，一般に紅藻類は緑藻類および褐藻類より高い値を示した．

2. リボフラビン含量は0.38～17.95γ/gで，緑藻類，褐藻類および紅藻類の綱別による差異は認められなかった．

3. ニコチン酸含量は2.0～39.0γ/gで，リボフラビン同様海藻の綱別による差異は認められなかった．

4. パントテン酸含量は0～12.2γ/gで，紅藻類は緑藻類および褐藻類より大きい値を示した．

5. 海藻中のチアミン，リボフラビン，ニコチン酸およびパントテン酸含量は陸上植物性食品と比較して，チアミンは種類によって低い含量のものもあるが，その他のビタミンは同程度かあるいはそれを上廻った．

VII. リ　ポ　酸

1951年 Reed ら[74]により肝臓および酵母から，はじめて結晶として分離されたリポ酸(Lipoic acid)は，Reed[75]，Gunsalus[76]によれば，細菌においてピルビン酸酸化反応に補酵素として重要な役割を果しており，Sanadi ら[77]によれば，細菌のみならずハト・ブタなどの高等動物組織中にも存在することを認められ，また人尿中にリポ酸が排泄されることもStokstad ら[78]によって証明された．また最近高田[79]は麹菌中に *S. faecalis* の増殖を促進する未知因子の存在を，また桂[80]，能勢[81]は人尿中のリポ酸について報告し，細菌およ

び高等動物における代謝の役割が漸次解明されつつある．一方リポ酸は動植物組織中に遊離型あるいは結合型として広く存在するものと考えられるが，海藻におけるリポ酸はその存在についてさえ報告されていない．

著者は *S. faecalis* 10C1 を使用した bioassay 法により海藻中のリポ酸含量および形態を調べた．

1. 実験方法

A. リポ酸の定量法

和田ら[82]，平泉[83]の *S. faecalis* 10C1 を使用する bioassay 法によった．菌株は *S. faecalis* 10C1 を使用し，基礎培地は Stokstad [84] の培地を用いたが，培地に加える酵素カゼイン分解物はベンゼンで処理したペプトンを代用した．リポ酸定量の標準曲線は 0.25～4.0 mγ/cc の範囲で得られる．滅菌はオートクレーブで 15 lbs で10分間加圧処理した．培養は34°C で16時間とし，培養後 640mμ のフィルターを使用し，濁度を測定した．和田ら[82]，平泉[83] は 34°C で72時間培養後，酸滴定により測定しているが，著者は24時間以上の培養では低濃度部の増殖が高度となり標準曲線が崩れてくるので，高田[79),85)] の16時間培養後比濁による測定を採用し良好な結果を得た．

B. 試　料

海藻試料は鹿児島県薩摩半島南端長崎鼻で摘採し，直ちに持ち帰えり実験に供した．また一部は 80°C 以下で乾燥しデシケーターに保存した．

2. 実験および結果の考察

A. 海藻よりリポ酸の抽出

天然物中のリポ酸は主として結合型で存在するが，*S. faecalis* は結合型を利用できないので，抽出後遊離型としなければならない．抽出法については Reed ら[86]，Fischer [87]，和田ら[82]，平泉[83]により詳細に検討されているが，著者は海藻試料の抽出法につき比較検討した．その結果は Table 1 の通りである．海藻の風乾物および新鮮物のホモジネート (pH 6.8 燐酸緩衝液) を 100°C で 5 分間加熱し，遠沈後上澄をとり測定した値は甚だ低かった．酵素分解処理として，トリプシンおよびタカジアスターゼを加え（試料 1g に対し25mg)，37°C で24時間培養した場合も測定値は低かった．しかし酸加水分解処理として 1N, 2N, 4N および 6N H_2SO_4 溶液とし，15 lbsで1時間加熱後測定した場合にはよく抽出され，特に 4N H_2SO_4 加水分解処理で最高の値を得たのでこれを採用した．

その方法は海藻0.2g に 4N H_2SO_4 20cc を加え，オートクレーブで 15 lbs, 1 時間加水分解し，NaOH で pH 6.8に調整後水で 100cc とする．これを適当に稀釈してリポ酸総量測定の試料検液とする．遊離型の抽出法は海藻 0.2g を pH 6.8 の燐酸緩衝液中で細粉し，10分間煮沸して 50cc にしたものを試料検液とし，上記リポ酸総量との差を結合型とした．

B. 海藻中のリポ酸含量および形態

約40種の海藻につき測定したリポ酸の遊離型，結合型および総量は Table 2の通りである．なおリポ酸の既知量を添加した試料について再検率を検討した結果は 85～115 %であった．リポ酸総量は緑藻で145～515mγ/g，褐藻で90～645mγ/g，紅藻で125～985mγ/g で，緑藻，

Table 1. Lipoic acid contents of various extracts from seaweeds

Extracts \ Seaweeds (Dried material)	Chlorophyceae	Phaeophyceae	Rhodophyceae
	Midorige, *Cladophoropsis zollingeri*	Iwahige, *Myelophycus caespitosus*	Akabaginnansou, *Rhodoglossum pulcherum*
Boiling (5 min.)	0 mγ/g.	18 γm/g.	80 mγ/g.
Trypsin (incubated at 37°C, for 24 hours)	90	45	230
Takadiastase (incubated at 37°C, for 24 hours)	100	45	220
1 N H_2SO_4 (autoclaved at 15 lbs., for an hour)	230	90	410
2 N H_2SO_4 (〃)	380	280	580
4 N H_2SO_4 (〃)	480	290	640
6 N H_2SO_4 (〃)	320	290	600
Extracts \ Seaweeds (Fresh material)	Anaaosa, *Ulva pertusa*	Fukuronori, *Colpomenia sinuosa*	Kabanori, *Gracilaria textorii*
Boiling (5 min.)	12 mγ/g.	20 mγ/g.	100 mγ/g.
Autolysis (incubated at 37°C, for 24 hours)	25	13	115
Trypsin (incubated at 37°C, for 24 hours)	73	19	108
Takadiastase (incubated at 37°C, for 24 hours)	82	66	175
1 N H_2SO_4 (autoclaved at 15 lbs., for an hour)	90	160	190
2 N H_2SO_4 (〃)	90	170	256
4 N H_2SO_4 (〃)	125	165	270
6 N H_2SO_4 (〃)	120	125	260

褐藻，紅藻の綱別とリポ酸含量との間には何ら関係はみられなかった．なお一般に遊離型はかなり少なく，リポ酸総量の10～20%に過ぎないが，褐藻のカジメだけは遊離型が多かった．

3. 小　括

1. 海藻のリポ酸抽出法につき種々比較検討した結果，4N H_2S0_4 で 15 lbs，1時間加圧分解する方法が最高の値を得たので，一般に海藻中のリポ酸定量には，この抽出法を行なわねばならないことを知った．

2. 約40種類の海藻について定量したリポ酸含量はリポ酸総量として，緑藻 145～515 mγ/g，褐藻90～645mγ/g，紅藻125～985mγ/g で，海藻の綱別による含量に差異はみられなかった．

3. 遊離型リポ酸は一般に少なく，リポ酸総量の10～20%に過ぎない．

Table 2. Lipoic acid contents of seaweeds (on dry basis)

	Seaweeds		Free form	Conjugated form	Total content	Free form / Total content ×100
			mγ/g.	mγ/g.	mγ/g.	%
Chlorophyceae	Anaaosa,	*Ulva pertusa*	140	280	420	33.3
	Sujiaonori,	*Enteromorpha prolifera*	15	130	145	10.4
	Midorige,	*Cladophoropsis zollingeri*	75	440	515	14.6
	Kokeiwazuta,	*Caulerpa webbiana*	50	190	240	20.8
	Fusaiwazuta,	〃 *okamurai*	85	120	205	42.0
Phaeophyceae	Amijigusa,	*Dictyota dichotoma*	75	425	500	15.0
	Sanadagusa,	*Pachydictyon coriaceum*	75	570	645	11.6
	Umiuchiwa,	*Padina arborescens*	45	185	230	19.6
	Iwahige,	*Myelophycus caespitosus*	30	330	360	8.3
	Kagomenori,	*Hydroclathrus clathratus*	55	275	330	16.7
	Fukuronori,	*Colpomenia sinuosa*	70	470	540	12.9
	Makonbu,	*Laminaria japonica*	45	155	200	22.5
	Kajime	*Ecklonia cava*	85	5	90	94.4
	Ezoishige,	*Pelvetia wrightii*	75	160	235	31.9
	Hijiki,	*Hizikia fusiforme*	85	145	230	37.0
	Yatsumatamoku,	*Sargassum patens*	15	565	580	2.6
	Hondawara,	〃 *fulvellum*	50	250	300	16.7
	Umitoranoo,	〃 *thunbergii*	70	200	270	25.9
	Narasamo,	〃 *nigrifolium*	200	210	410	48.8
	Nokogirimoku,	〃 *serratifolium*	75	265	340	22.1
Rhodophyceae	Asakusanori,	*Porphyra tenera*	90	700	790	11.4
	Makusa,	*Gelidium amansii*	75	495	570	13.2
	Akaba,	*Neodilsea yendoana*	50	240	290	17.2
	Naminohana,	*Chondrococcus japonicus*	75	175	250	30.0
	Sujimukade,	*Grateloupia ramosissima*	90	440	530	17.0
	Kintoki,	*Carpopeltis angusta*	20	185	205	9.8
	Matsunori,	〃 *affinis*	75	235	310	24.2
	Mafunori,	*Gloiopeltis tenax*	50	280	330	15.2
	Ibaranori,	*Hypnea charoides*	65	290	355	18.3
	Kabanori,	*Gracilaria textorii*	165	820	985	16.9
	Akabaginnansou,	*Rhodoglossum pulcherum*	95	675	770	12.3
	Kurobaginnansou,	*Iridaea cornucopiae*	25	205	230	10.9
	Tsunomata,	*Chondrus ocellatus*	85	615	700	12.1
	Makuri,	*Digenea simplex*	15	110	125	12.0
	Kobusozo,	*Laurencia undulata*	60	240	300	20.0

VIII. ビタミン B_{12}

ビタミン B_{12} は広く動物界に分布し，緑色植物や植物性食品にはほとんど存在しないといわれているが，Ericson ら[88]，橋本ら[89),90)]により海藻中に B_{12} が発見され，植物起源にも存在することが判明した．一方 Robbins ら[91)] も海藻に B_{12} が存在することを見出し，佐藤[92)]も植物食品中アサクサノリのみ B_{12} が存在し，他の多くの植物食品にはほとんど存在しないことを認めた．また上野[93)] は淡水藻類について，Kuceva ら[94)] は黒海，バーネット海の海藻について，それぞれ B_{12} 含量を報告している．

著者は主として本邦南方海域で摘採した40種の海藻についてビタミン B_{12} 含量を測定し，海藻の APF あるいは B_{12} 資源としての価値について検討した．

1. 実験方法

A. 定量法

ビタミンB_{12}の定量は *Euglena gracilis* 法および *Ochromonas malhamensis* 法の両者を用いた.

Euglena gracilis 法には Provasoli ら[95], Hutner ら[96], Robbins ら[97], 上田ら[98], 佐藤[99], 上久保[100] の研究があるが, 本法では主として佐藤[99] の方法によった. 使用菌株は *Euglena gracilis var bacillaris* (ATCC 10616) により, 培養は 30°C で 4～5 日とし, 培養後濁度を測定した.

Ochromonas malhamensis 法には Hutner ら[101),102)], Ford[103], 上久保[100], 宮本[104)]の研究があるが, 本法では主として Ford [103)] の方法によった. 培養は 29°C で, 試験管が水平面と約10°の角度になるよう傾斜させて90時間培養し, のち濁度を測定した.

B. 試料の調製

天然物中の B_{12} は hydroxocobalamin のような不安定な形で存在したり, 種々の蛋白または他の物質と結合した状態で存在する場合が多いので, この結合型 B_{12} を遊離型に抽出して定量した.

抽出法としては種々の方法があるが, 最良とされている KCN 抽出法[103),105),106),107),108),104)]によった. しかし *O. malhamensis* を用いる場合, 試料の抽出に醋酸緩衝液を加えると菌の生育を阻害するので次の如く処理した.

試料 1 g に水 50cc 加え, KCN を B_{12} 1γ に対し 1mg の割合で加え, HCl で pH 4.5～5.0とし, 15 lbs で 5分加圧分解したのち NaOH で中和し, 100cc としたのち沪過して試料液とした.

2. 結果および考察

40種の海藻について *Euglena* 法および *Ochromonas* 法で測定した B_{12} 含量は Table 1 の通りである.

Euglena 値は緑藻類23.0～311.2mγ/g, 褐藻類2.1～76.5mγ/g, 紅藻類15.2～219.7mγ/g で緑藻, 紅藻は褐藻より3～4倍程度多く, この傾向は橋本ら[90)]も認めている. Robbins ら[91)]は種々の藻類について 10～640mγ/g を測定し, Ericson[88)] は25種の海藻について, 緑藻で平均350mγ/g, 褐藻で平均70mγ/g, 紅藻で平均270mγ/g を測定し, 上野[93)]は淡水藻類について, *L. Leichmannii* 法で24～150mγ/g を測定し, Kuceva ら[94)] は黒海, バーネット海の海藻について 4～311mγ/g を定量している.

著者の定量した含量は, これら諸氏の定量値と比較してほぼ一致したが, ただ Ericson の定量値とは著者の方が少なかった. Ericson は海藻の B_{12} 含量は肝臓の半分程度もあり, 世界未利用海藻資源量は莫大なものであるから, 海藻は B_{12} 資源として極めて有望であると発表したが, 著者の調べた範囲では, 海藻の種類により, 肝臓の半分に達するものもあるが, 肝臓より少ないものが大部分であった. しかし一般に, 海藻の B_{12} 含量は内臓一般に匹敵し, 牛肉, 魚肉などよりかなり多いので, 今後海藻は食品の B_{12} 資源として, 家畜の APF 飼料として, 利用の可能性があると考えられる.

このように海藻中の B_{12} を *Euglena* 法で測定した結果, かなり豊富に含まれることを認めたが *Euglena gracilis* は cyanocobalamin 以外に, Pseudo-B_{12}, Factor A, Factor C にも反応を示すため, 海藻中の B_{12} 活性が果して cyanocobalamin そのものであるかどうか, この点を確かめる目的で, cyanocobalamin のみに活性を示すといわれる *Ochromonas*

Table 1. Comparison between the values assayed by two different assay organisms, *Euglena* and *Ochromonas* (on dry basis)

	Seaweeds		*Euglena* method (mγ/g.)	*Ochromonas* method (mγ/g.)	*Ochro.*/*Euglena* × 100 (%)	Pseud-B_{12} (mγ/g.)
Chlorophyceae	Anaaosa,	*Ulva pertusa*	62.8	15.7	25	5.9
	Ribonaosa,	〃 *fasciata*	23.0	10.2	44	1.6
	Kikkogusa,	*Dictyosphaeria cavernosa*	27.9	13.8	49	1.8
	Hosojuzumo,	*Chaetomorpha crassa*	311.2	129.2	42	22.8
	Sennarizuta,	*Caulerpa racemosa*	149.4	16.4	11	16.6
Phaeophyceae	Amijigusa,	*Dictyota dichotoma*	10.1	5.2	52	0.6
	Komongusa,	*Spathoglossum pacificum*	7.0	6.2	89	0.1
	Shiwayahazu,	*Dictyopteris undulata*	41.0	23.1	56	2.2
	Herayahazu,	〃 *prolifera*	17.1	33.0	193	—
	Umiuchiwa,	*Padina arborescens*	4.2	2.1	50	0.3
	Ishige,	*Ishige okamurai*	9.0	7.5	83	0.2
	Iwahige,	*Myelophycus caespitosus*	7.6	6.9	91	0.1
	Fukuronori,	*Colpomenia sinuosa*	76.5	49.4	65	3.4
	Kagomenori,	*Hydroclathrus clathratus*	65.8	23.6	36	5.3
	Kajime,	*Ecklonia cava*	3.3	1.6	48	0.2
	Hijiki,	*Hizikia fusiforme*	5.7	5.7	100	0
	Nokogirimoku,	*Sargassum serratifolium*	2.1	1.2	57	0.1
	Oobamoku,	〃 *ringgoldianum*	3.2	1.2	38	0.3
	Umitoranoo,	〃 *thunbergii*	46.5	22.0	47	3.1
	Isomoku,	〃 *hemiphyllum*	72.7	74.3	102	—
	Narasamo,	〃 *nigrifolium*	20.7	6.1	30	1.8
Rhodophyceae	Hiragaragara,	*Galaxaura falcata*	37.5	35.1	94	0.3
	Makusa,	*Gelidium amansii*	35.9	19.3	54	2.1
	Naminohana,	*Chondrococcus japonicus*	219.7	38.7	18	22.6
	Himemosazuki,	*Jania decussato-dichotoma*	22.4	14.4	64	1.0
	Sujimukade,	*Grateloupia ramosissima*	29.4	12.5	43	2.1
	Tanbanori,	〃 *elliptica*	23.6	16.8	71	0.9
	Kintoki	*Carpopeltis angusta*	16.6	12.0	72	0.6
	Matsunori,	〃 *affinis*	42.1	19.5	46	0.3
	Mafunori,	*Gloiopeltis tenax*	15.2	15.2	100	0
	Ibaranori,	*Hypnea charoides*	26.5	22.5	85	0.5
	Ogonori,	*Gracilaria verrucosa*	212.3	87.2	41	15.6
	Kabanori,	〃 *textorii*	75.7	39.3	52	4.6
	Okitsunori,	*Gymnogongrus flabelliformis*	45.4	42.5	94	0.4
	Shikinnori,	*Gigartina teedii*	55.4	34.9	63	2.6
	Tsunomata,	*Chondrus ocellatus*	89.2	12.0	14	9.7
	Fushitsunagi,	*Lomentaria catenata*	25.2	23.6	94	0.2
	Makuri,	*Digenea simplex*	83.6	16.9	20	8.3
	Mitsudesozo,	*Laurencia okamurai*	100.2	65.1	65	4.4
	Kobusozo,	〃 *undulata*	43.1	25.8	59	2.2

malhamensis[109] により，同一試料，同一浸出液について測定し，*Euglena* 値と比較した．

その結果 *Euglena* 値にくらべて，*Ochromonas* 値はかなり低く，例えばアナアオサではその比が25%で，種類によっては10%程度のものもあり，一般に *Euglena* による海藻中の B_{12} 含量の½～⅓は cyanocobalamin 以外の活性物質と思われる．宮本[104] も *L. Leichmannii* 法と *O. malhamensis* 法により，食品中の B_{12} 含量を比較し，動物性試料では両者の値に差がないが，植物性試料では，かなりの差を認め，著者の結果と一致している．

また *Euglena* 値の cyanocobalamin 以外の活性物質は Pseudo-B_{12} と思われるが，Ericson ら[88] が海藻中に cyanocobalamin の他，Pseudo-B_{12} を検出しているのに対し，

SOUTHCOTT ら[110]は *Fucus*, *Laminaria* 属8種の海藻について，Pseudo-B_{12} を検出できなかったと報告しており，海藻中の Pseudo-B_{12} の存在は明らかでない．著者は BAKER ら[111]の提案した B_{12} 類似体の分離定量法により，Pseudo-B_{12} を測定した．即ち *Ochromonas* 法による定量値は真の B_{12} を示し，*Euglena* 値には Pseudo-B_{12} が加算されているとして，

$$\text{Pseudo-}B_{12} = \frac{\textit{Euglena}\ 値 - \textit{Ochromonas}\ 値}{8}$$

なる式で算出した．その結果は Table 1 の通りで，0～22.6mγ/g の Pseudo-B_{12} が存在することになる．しかし COATES[112] らによれば，Pseudo-B_{12} の活性は cyanocobalamin と同等であると報告しているので，BAKER の測定値の8倍になる．また一方海藻中には *Euglena* に対して効力をもつ Factor A の存在も報告されているので，BAKER らの算出式による Pseudo-B_{12} 含量には，いろいろ問題があり，これらを含めて海藻中の Pseudo-B_{12} に関しては他に発表の予定である．

3. 小　括

海藻中の B_{12} を *Euglena* 法および *Ochromonas* 法で定量し，次の結果を得た．

1. B_{12} 含量は *Euglena* 値で，緑藻類23.0～311.2mγ/g，褐藻類2.1～76.5mγ/g，紅藻類15.2～219.7mγ/g で，緑藻，紅藻に多く，褐藻はやや少ない．
2. 海藻中の B_{12} 含量は内臓一般に匹敵し，動物肉などより多かった．
3. 海藻の B_{12} は *Euglena* 値と *Ochromonas* 値との間にかなりの差異があり，海藻の B_{12} 含量の½～⅓は Pseudo-B_{12} と考えられ，この点動物組織と比較して異なっている．

IX. 論 議・総 括

自然界には莫大な海藻資源が未利用のまま残されているが，著者はこの資源の高度利用を図る方法として，これを食品，飼料などとしての活用を考える場合，問題となるビタミンB複合体に関し，これまで全く知られなかったものを含む総合的研究を行なった．研究したビタミンB複合体はチアミン，リボフラビン，ニコチン酸，パントテン酸，葉酸，ビオチン，リポ酸，B_{12}，コリンおよびイノシトールで，まずその分布を定量した結果，海藻のこれらビタミン含量は動植物性食品と比較してほとんど遜色なく，海藻はビタミンB複合体に富むすぐれた資源であることがわかった．海藻のビタミン含量は試料の採集場所，時期，老幼および部位など条件の相異により異なると考えられるが，昭和33年および34年5月，鹿児島県薩摩半島南端長崎鼻で摘採した本邦南方海域の数十種の海藻について測定した．その一部の海藻につき，ビタミンB複合体含量を総合的にまとめた結果は Table 1 の通りである．

個々のビタミンについてその含量を検討すると，まずチアミンは0.27～4.60γ/g で，カバノリ，マフノリ，ツノマタに多く，リボフラビンは 0.84～23.08γ/g で，アサクサノリ，マクサ，ツノマタ，マフノリに多く，ニコチン酸は 3.51～68.33γ/g で，アサクサノリ，ミツデソゾ，カバノリに多く，パントテン酸は 0.25～12.21γ/g で，フシツナギ，カバノリ，ミツデソゾ，ウミトラノオに多く，葉酸は 46.0～857.1mγ/g で，カゴメノリ，マクサ，ミツデソゾに多く，ビオチンは 18～294mγ/g で，アサクサノリ，ウミトラノオ，ヒジキ，アナアオサに多く，リポ酸は 90～985mγ/g で，カバノリ，アサクサノリ，ツノマタに多く，B_{12} は 3.3～290.8mγ/g で，アサクサノリ，ナミノハナ，オゴノリ，センナリズタに多く，

Vitamin B-complex contents in seaweeds (on dry basis)

	Seaweeds		B_1 γ/g.	B_2 γ/g.	Niacin γ/g.	Pantothenic acid γ/g.	Folic acid mγ/g.	Biotin mγ/g.	Lipoic acid mγ/g.	B_{12} mγ/g.	Choline γ/g.	Inositol γ/g.
Chloro-phyceae	Anaaosa,	*Ulva pertusa*	0. 90	2. 83	7. 50	2. 35	118	224	420	62. 8	61	330
	Hitoegusa,	*Monostroma nitidum*	1. 19	8. 46	10. 28	4. 11	429	115	515	12. 6	79	219
	Usubaaonori,	*Enteromorpha linza*	1. 50	1. 21	28. 05		270	198	175	97. 5	417	95
	Sennarizuta,	*Caulerpa racemosa*	0. 78	1. 97	21. 18	5. 53	612	131	295	149. 4	358	584
Phaeophyceae	Amijigusa,	*Dictyota dichotoma*	0. 75	6. 14	15. 20	0. 73	521	187	500	10. 1	77	125
	Komongusa,	*Spathoglossum pacificum*	0. 36	0. 84	25. 21	0. 25	566	150	655	7. 0	87	114
	Herayahazu,	*Dictyopteris prolifera*	0. 50	4. 10	18. 02	3. 70	170	163	485	17. 1	242	151
	Umiuchiwa,	*Padina arborescens*	0. 29	0. 99	8. 86	1. 74	542	160	230	4. 2	27	690
	Iwahige,	*Myelophycus caespitosus*	0. 27	3. 06	14. 17	3. 15	88	162	360	7. 6	618	1131
	Fukuronori,	*Colpomenia sinuosa*	0. 31	5. 44	5. 13	2. 92	46	136	540	76. 5	406	116
	Kagomenori,	*Hydroclathrus clathratus*	0. 34	2. 82	3. 51	3. 07	857	181	330	65. 8	49	408
	Kajime,	*Ecklonia cava*	1. 10	2. 52	18. 84	0. 49		209	90	3. 3	262	379
	Hijiki,	*Hizikia fusiforme*	0. 28	2. 67	6. 80	1. 49	218	237	230	5. 7	33	328
	Hondawara,	*Sargassum fulvellum*	0. 30	5. 03	8. 65	2. 30	634	126	300	25. 4	95	60
	Umitoranoo,	// *thunbergii*	0. 38	5. 34	4. 46	8. 76	308	282	270	46. 5	28	566
	Narasamo,	// *nigrifolium*	0. 40	6. 21	17. 19	0. 49	249	159	410	20. 7	24	197
Rhodophyceae	Asakusanori,	*Porphyra tenera*	1. 65	23. 08	68. 33		88	294	790	290. 8	2920	62
	Makusa,	*Gelidium amansii*	1. 60	17. 95	20. 10	1. 22	782	61	570	35. 9	4885	443
	Naminohana,	*Chondrococcus japonicus*	1. 41	10. 51	8. 15	1. 30	97	40	250	219. 7	1337	449
	Sujimukade,	*Grateloupia ramosissima*	1. 38	6. 27	24. 46	2. 32	719	82	530	29. 4	1119	55
	Mafunori,	*Gloiopeltis tenax*	2. 45	14. 60	23. 79	5. 85	676	37	330	15. 2	319	163
	Ibaranori,	*Hypnea charoides*	1. 42	2. 90	21. 50	6. 82	540	94	355	26. 5	636	257
	Ogonori,	*Gracilaria gigas*	1. 80	1. 09	7. 81	1. 82	304	18	495	212. 3	1492	324
	Kabanori,	// *textorii*	4. 60	6. 92	33. 90	9. 73	668	153	985	75. 7	230	668
	Tsunomata,	*Chondrus ocellatus*	2. 19	14. 73	29. 65	7. 04		69	700	89. 2	856	111
	Fushitsunagi,	*Lomentaria catenata*	0. 97	3. 16	24. 24	12. 21	220	90	625	25. 2	240	263
	Mitsudesozo,	*Laurencia okamurai*	0. 53	10. 24	39. 02	8. 97	763	95	300	100. 2	1346	89

コリンは24～4885γ/gで，マクサ，アサクサノリに多く，イノシトールは55～1131γ/gで，イワヒゲ，カバノリ，センナリズタ，ウミトラノオに多かった．

またこれらビタミン含量が海藻の綱別即ち緑藻類，褐藻類，紅藻類によって異なるか否かを見ると，緑藻類は実験例が少ないので明確でないが，褐藻類と紅藻類の間には顕著な差異が観察されるものが多かった．即ちチアミン，リボフラビン，ニコチン酸，パントテン酸，B_{12}，コリンはいずれも褐藻より紅藻に多く，チアミンは約4倍，リボフラビンは3倍，ニコチン酸，パントテン酸は2倍，B_{12}は4倍，コリンは6倍も多く含まれ，これとは反対にビオチンは褐藻より紅藻が少なく½程度であった．その他のビタミンB複合体，葉酸，イノシトールはほとんど差異がみられなかった．チアミン，リボフラビン，ニコチン酸，パントテン酸，B_{12}，コリンおよびビオチンなどにみられる藻類の綱別による傾向は海藻の生理に関して興味ある事実を示すものと思われる．

次に各藻類のビタミン含量を検討すると，緑藻中のアナアオサはビオチン給源として，センナリズタはB_{12}とイノシトール給源としてすぐれている．褐藻中のイワヒゲにはイノシトールが多く，カゴメノリには葉酸が多く，ヒジキにはビオチンが，ウミトラノオにはパントテン酸，ビオチン，イノシトールが多く含まれている．特にイワヒゲのイノシトール，カゴメノリの葉酸は藻類中最高の含量で，すぐれたビタミン資源と考えられる．紅藻中のアサクサノリはリボフラビン，ニコチン酸，ビオチン，リポ酸，B_{12}，コリン給源として，マクサはリボフラビン，葉酸，コリン給源として，ナミノハナはB_{12}，マフノリはチアミン，リボフラビン，オゴノリはB_{12}，カバノリはチアミン，ニコチン酸，パントテン酸，リポ酸，イノシトール，ツノマタはチアミン，リボフラビン，リポ酸，フシツナギはパントテン酸，ミツデソゾはニコチン酸，パントテン酸，葉酸給源としてすぐれていた．特にアサクサノリのリボフラビン，ニコチン酸，ビオチン，B_{12}，マクサのコリン，カバノリのチアミン，リポ酸は海藻中最高の含量を示し，これら海藻はビタミンB複合体を極めて豊富に含むビタミン資源と考えられる．

次に著者が定量した海藻のビタミン含量と，動植物性食品中高含量として知られているキャベツ，ホウレンソウ，ニンジン，バレイショ，エンドウ，トマト，トウモロコシ，米，牛肉，豚肉，カツオおよびタイなどのビタミン含量と比較してみると，まず海藻中紅藻のチアミン含量は動植物性食品とほぼ同程度であるが，褐藻は少なかった．緑藻，褐藻のリボフラビン含量は他の食品と同程度であり，紅藻は約その3倍含まれていた．ニコチン酸含量は他の食品と同程度か，あるいはそれを上廻るものが多かった．パントテン酸含量は他の食品含量にほぼ匹敵する値を示した．葉酸給源として，海藻中比較的含量の高いものは動植物性食品にほぼ匹敵するが，一般に海藻の葉酸は低い値を示した．リポ酸は動植物組織について測定した例がないので比較できないが，海藻には多量含まれているのでリポ酸給源として役立つと思われる．B_{12}は植物性食品にほとんど含まれていないが，動物性食品と比較しても，はるかに多く，動物の内臓に匹敵するものが多かった．コリン給源として，海藻は他の食品と比較し，同等かあるいはそれを上廻るものが多かった．イノシトール給源として，海藻は一般に他の食品よりもやや劣っていた．このように海藻のビタミンB複合体のうち，イノシトール，葉酸，チアミン含量は野菜，果実ならびに動物性食品のビタミン含量と比較して海藻の種類により少ないものもあるが，その他のB_{12}，リボフラビン，ニコチン酸，ビオチ

ン，パントテン酸，リポ酸，コリンなどは同等かあるいは遥かにそれを上廻り，すぐれた食品として利用されるべきものであることを明らかにした．

最近 Teeri ら[113]はヒバマタ，コンブ，ツノマタなど4種の海藻についてチアミン，リボフラビン，ニコチン酸，パントテン酸，葉酸，ビオチンおよび B_{12} の7種のビタミンを測定し，そのうち紅藻ツノマタはニコチン酸，パントテン酸含量が高値を示し，野菜，果物ならびに動物性食品よりもすぐれていると報告しているが，著者の測定した値と比較してみると，パントテン酸，B_{12} は著者の値より多く，ビオチン，チアミンは少なく，ニコチン酸，リボフラビンは同程度であった．

従来海藻のビタミンは一部の海藻で，2，3のビタミンについて断片的に報告されているに過ぎなかったが，本研究は多種類の海藻につき，10種類のビタミンB複合体を測定した結果，従来栄養的に軽視されてきた海藻が，その含有量において野菜，果実および動物性食品に劣らぬビタミン類の給源であることがわかり，今後，海洋における海藻資源の分布調査とともに，また海藻の消化吸収の研究，あるいは調理，加工技術の進歩とともに，人間あるいは動物のビタミンB給源として，利用さるべきものであることを明らかにした．

なお海藻のビタミンB複合体のうち，パントテン酸，ビオチン，リポ酸，コリン，イノシトールは，従来含量はもちろん，その存在すら知られていなかったが，著者は始めて海藻におけるこれらビタミンの存在を確認し，含量を決定した．さらに海藻中のビタミンB複合体は他の動植物組織と同様，結合型で存在することを明らかにし，この結合型を遊離型に変えて各型を分別定量した．また葉酸，ビオチンおよび B_{12} などにはそれぞれ多くの類似体が存在するが，それら各類似体についてもそれぞれ分別定量し，海藻における各ビタミンB複合体の存在状態の全貌をも解明した．

文　献

1) 新田・田口・森 (1948)：日水誌，**13**, 153.
2) 矢吹・片山・富山 (1949)：*Ibid.*, **15**, 249.
3) 片山・矢吹・富山 (1949)：*Ibid.*, **15**, 415.
4) 金沢・柿本 (1958)：*Ibid.*, **24**, 573.
5) Lynes, K. J., Norris, F. W. (1948)：*J. Inst. Brew.*, **54**, 150.
6) 渡辺・後藤 (1954)：薬学雑誌，**74**, 157.
7) Wright, L. D., Skeggs, H. R. (1944)：*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **56**, 95.
8) Barton-Wright, E. C. (1945)：*Analyst*, **70**, 283.
9) Luckey, T. D., Moore, P. R., Elvehjem, C. A. (1946)：*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **61**, 97.
10) 新村 (1957)：ビタミン，**12**, 106.
11) Lampen, J. O., Bahler, G. P., Peterson, W. H. (1942)：*J. Nutr.*, **23**, 11.
12) Williams, V. R. (1945)：*J. Biol. Chem.*, **159**, 237.
13) 佐橋ら編 (1956)：ビタミン学，p. 762，金原出版．
14) 福井・坂本・谷 (1955)：ビタミン，**8**, 118.
15) Thoma, R. W., Peterson, W. H. (1954)：*J. Biol. Chem.*, **210**, 569.
16) Harrison, J. S. (1951)：*Analyst*, **76**, 77.
17) Wright, L. D., Cresson, E. L., Driscoll, C. A. (1954)：*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **86**, 480.
18) 桑田・増田・後藤 (1954)：ビタミン，**7**, 328.
19) 渡辺・後藤 (1954)：薬学雑誌，**74**, 160.
20) 後藤・川島・逸見 (1954)：薬学雑誌，**74**, 527.
21) 福井・坂本・谷 (1958)：ビタミン，**14**, 436.

22) Wright, L. D., Cresson, E. L. (1954) : *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 4156.
23) Wright, L. D., Cresson, E. L., Valiant, J., Wolf, D. E., Folkers, K. (1954) : *Ibid.*, **76**, 4160, 4163.
24) Melville, D. B. (1954) : *J. Biol. Chem.*, **208**, 495.
25) Melville, D. B., Genghof, D. S., Lee, J. M. (1954) : *Ibid.*, **208**, 503.
26) Shull, G. M., Hutchings, B. L., Peterson, W. H. (1942) : *Ibid.*, **142**, 913.
27) Shull, G. M., Peterson, W. H. (1943) : *Ibid.*, **151**, 201.
28) Atkin, L., Williams, W. L., Schultz, A. S., Frey, C. N. (1943) : *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, **15**, 654.
29) Atkin, L., Schultz, A. S., Williams, W. L., Frey, C. N. (1943) : *Ibid.*, **15**, 141.
30) 福井・坂本・谷 (1955) : ビタミン, **8**, 218.
31) 谷 (1957) : *Ibid.*, **12**, 546.
32) Horowitz, N. H., Beadle, G. W. (1943) : *J. Biol. Chem.*, **150**, 325.
33) Hodson, A. Z. (1945) : *Ibid.*, **157**, 383.
34) Tatum, E. L., Ritchey, M. G., Cowdry, E. V., Wicks, L. F. (1946) : *Ibid.*, **163**, 675.
35) Melville, D. B., Dittmer, K., Brown, G. B., Vigneaud, V. (1943) : *Science*, **98**, 497.
36) Dittmer, K., Melville, D. B., Vigneaud, V. (1944) : *Ibid.*, **99**, 203.
37) Lilly, V. G., Leonian, L. H. (1944) : *Ibid.*, **99**, 205.
38) Tatum, E. L. (1945) : *J. Biol. Chem.*, **160**, 455.
39) Wright, L. D., Cresson, E. L., Skeggs, H. R., Wood, T. R., Peck, R. L., Wolf, D. E., Folkers, K. (1950) : *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 1048.
40) Wright, L. D., Skeggs, H. R., Cresson, E. L. (1951) : *Ibid.*, **73**, 4144.
41) Wright, L. D., Cresson, E. L., Liebert, K. V., Skeggs, H. R. (1952) : *Ibid.*, **74**, 2004.
42) Zeller, A. (1934) : *Biochem. Z.*, **268**, 187.
43) 荻野 (1941) : 日水誌, **10**, 156.
44) 荻野 (1943) : *Ibid.*, **12**, 48.
45) Atkin, L., Williams, W. L., Schultz, A. S., Frey, C. N. (1944) : *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, **16**, 67.
46) 佐橋ら編 (1956) : ビタミン学, p. 772 金原出版.
47) Woolley, D. W. (1941) : *J. Biol. Chem.*, **140**, 453.
48) 堀口・柿本・柏田 (1950) : 鹿水専研究報告, **1**, 41.
49) Luecke, R. W., Pearson, P. B. (1944) : *J. Biol. Chem.*, **155**, 507.
50) 藤田 (1955) : ビタミン定量法, p. 275, 南江堂.
51) 三田 (1960) : 日水誌, **26**, 1010, 1013.
52) Heilbron, I. M., Parry, E. G., Phipers, R. F. (1935) : *Biochem. J.*, **29**, 1382.
53) 渡辺 (1937) : *Acta Phytochim.*, **9**, 255.
54) 辻村・田部井・和田 (1952) : 農化, **26**, 11.
55) 藤田 (1955) : ビタミン定量法, p. 710 南江堂.
56) Sarett, H. P., Cheldelin, V. H. (1944) : *J. Biol. Chem.*, **155**, 153.
57) Cheldelin, V. H., Bennett, M. J., Kornberg, H. A. (1946) : *Ibid.*, **166**, 779.
58) Snell, E. E., Strong, F. M. (1939) : *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, **11**, 346.
59) Roberts, E. C., Snell, E. E. (1946) : *J. Biol. Chem.*, **163**, 499.
60) Snell, E. E., Wright, L. D. (1941) : *Ibid.*, **139**, 675.
61) Krehl, W. A., Strong, F. M., Elvehjem, C. A. (1943) : *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, **15**, 471.
62) Barton-Wright, E. C. (1944) : *Biochem. J.*, **38**, 314.
63) Sarett, H. P., Pederson, R. L., Cheldelin, V. H. (1945) : *Arch. Biochem.*, **7**, 77.
64) Skeggs, H. R., Wright, L. D. (1944) : *J. Biol. Chem.*, **156**, 21.
65) Hoag, E. H., Sarett, H. P., Cheldelin, V. H. (1945) : *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, **17**, 60.
66) Strong, F. M., Carpenter, L. E. (1942) : *Ibid.*, **14**, 909.
67) Neilands, J. B., Strong, F. M. (1948) : *Arch. Biochem.*, **19**, 287.
68) Kaplan, N. O., Lipmann, F. (1948) : *J. Biol. Chem.*, **174**, 37.
69) Toepfer, E. W. Zook, E. G., Richardson, L. R. (1954) : *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, **37**, 182.

70) 佐橋ら編 (1956)：ビタミン学, p. 738, 金原出版.
71) 佐橋ら編 (1956)：ビタミン学, p. 744, 金原出版.
72) 佐橋ら編 (1956)：ビタミン学, p. 756, 金原出版.
73) 佐橋ら編 (1956)：ビタミン学, p. 760, 金原出版.
74) Reed, L. J. Debusk, B. G., Gunsalus, I. C., Hornberger, C. S. (1951)：*Science*, **114**, 93.
75) Reed, L. J. (1953)：*Physiol. Rev.*, **33**, 544.
76) Gunsalus, I. C. (1954)：*Federation Proc.*, **13**, 715.
77) Sanadi, D. R., Littlefield, J. W., Bock, R. M. (1952)：*J. Biol. Chem.*, **197**, 851.
78) Stokstad, E. L. R., Broquist, H. P., Patterson, E. L. (1953)：*Federation Proc.*, **12**, 430.
79) 高田 (1960)：ビタミンB研究委員会報告書, 68.
80) 桂 (1960)：*Ibid.*, 69.
81) 能勢 (1960)：*Ibid.*, 70.
82) 和田・平泉・繁田 (1958)：ビタミン, **14**, 158.
83) 平泉 (1958)：*Ibid.*, **15**, 349.
84) Stokstad, E. L. R., Hoffmann, C. E., Belt, M. (1950)：*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **74**, 571.
85) 高田 (1959)：ビタミンB研究委員会報告書, 59.
86) Reed, L. J., Debusk, B. G., Johnston, P. M., Getzendaner, M. E. (1951)：*J. Biol. Chem.*, **192**, 851.
87) Fischer, G. L. (1955)：*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **90**, 153.
88) Ericson, L. E., Lewis, L. (1953)：*Ark. Kemi*, **6**, 427.
89) 橋本・前田 (1953)：日水誌, **19**, 141.
90) 橋本・佐藤 (1954)：*Ibid.*, **19**, 987.
91) Robbins, W. J., Hervey, A., Stebbins, M. E. (1951)：*Bull. Torey. Botan. Club.*, **78**, 363.
92) 佐藤 (1953)：ビタミン, **6**, 212.
93) 上野 (1955)：*Ibid.*, **9**, 45.
94) Kuceva, L. S., Bukin, V. N. (1957)：*Dokl. Akad. Nauk. SSSR.*, **115**, 765；*Nutr. Abst. Rev.*, **28**, 470 (1958).
95) Provasoli, L., Hutner, S. H., Schatz, A. (1948)：*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **69**, 279.
96) Hutner, S. H., Provasoli, L., Stokstad, E. L. R., Hoffmann, C. H., Belt, M., Franklin, A. L., Jukes, T. H. (1949)：*Ibid.*, **70**, 118.
97) Robbins, W, J., Hervey, A., Stebbins, M. E. (1950)：*Bull. Torey. Botan. Club.*, **77**, 423.
98) 上田・槇・佐藤 (1951)：ビタミン, **4**, 191.
99) 佐藤 (1953)：*Ibid.*, **6**, 200.
100) 上久保 (1956)：*Ibid.*, **11**, 328.
101) Hutner, S. H., Provasoli, L., Hamilton, L. D. (1952)：*Analyst*, **77**, 618.
102) Hutner, S. H., Provasoli, L., Filfus, J. (1953)：*Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **56**, 852.
103) Ford, J. E. (1953)：*Brit. J. Nutr.*, **7**, 299.
104) 宮本 (1958)：ビタミン, **14**, 415.
105) Coates, M. E., Ford, J. E., Harrison, G. F., Kon, S. K., Porter, J. W. G. (1953)：*Brit. J. Nutr.*, **7**, 319.
106) 奥田 (1956)：ビタミン, **10**, 154.
107) 池田 (1956)：*Ibid.*, 10, 280.
108) 上久保 (1958)：*Ibid.*, **14**, 33.
109) Briggs, G. M., Daft, F. S. (1955)：*Ann. Rev Biochem.*, **24**, 339.
110) Southcott, B. A., Tarr, H. L. A. (1953)：*Fish. Res. Board Can. Progr. Rep. Pacif. Coast st.*, **95**, 45.
111) Baker, H., Sobotka, H., Pasher, I., Hutner, S. H. (1956)：*Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **91**, 636.
112) Coates, M. E., Ford, J. E. (1955)：*Biochem. Soc. Symp.* (13), 36.
113) Teeri, A. E., Bieber, R. E. (1958)：Science, **127**, 1500.

魚皮鞣製に関する基礎的研究

越　智　通　秋

Studies on the Tannage of Fish skin

Michitoshi Ochi

Summary

What the present paper deals with, of chiefly the researching-results concerning the properties of shark-skin put under the tanning process.

1. Effect of liming on the fish-skin.

The amount of the nitrogenous compounds dissolved out into the lime-water from the shark skin in the liming, increased in parallel with the time of liming, with no relation with the volume of lime-water.

The amount of ammonia-N and amide-N dissolved out from the shark skin was abont two times as much as that from the cattle hide. The contents of amide-N and diamino-N in the limed shark-skin were less than those of raw skin, while the contents of mono amino-N showed increasing tendency.

The detection of almost every kind of amino acid was possible in the lime-water used for liming. In general, the amino acids in the shark-skin dissolved out faster than those in the cattle-hide. Glycine, aspartic acid and alanine were apt to become free from the skin. The release existence of proline and hydroxyproline suggesting the decomposition of collagen was obserbed revealed in case of the shark-skin on the 7th and 10th day in the liming, while in case of the cattle-hide it was marked on the 17th day weakly. The contents of hydroxyproline and arginine in the shark-skin decreased and those in the lime-water increased gradually, after the 7th day. Accordingly, it was clarified that the liming of shark-skin should be kept in the peried from 7 to 10 days at about 23°C.

Before the occurrence of rapid decrease in the contents of hydroxyproline in the limed skin collagen, no change the hydrothermal shrinking temperature (Ts) could be observed.

Ts. of limed skin and that of delimed skin were observed to be not so high as that of raw skin, but Ts. of leather was always considerably higher than that of raw skin. From the above mentioned resalts it was presumed that the liming process should haveconsiderable effects on the skin, namely, the removal of unavilable protein; the swell and exposure of collagen; the increase of reactivity of skin to tan agent and the elevation of Ts of leather. In addition, it was confirmed that the day sneeded for the liming of shark-skin were far shorter than those for cattle hide.

II. Changes of lipid in fish skin.

The changes in the contents of lipid in the skin under the tanning process, especially the pickling process, were studied, mainly, with blue-fin-tuna-skin having much lipid.

Lipid contents in the skin under the liming process decreased in parallel with the time of liming. Only about 15% of lipid in tuna-skin was removed by liming, though, about another 40% of lipid was exuded by beaming, additionally. Moreover, a part of residual lipid was to be eliminated by the dehydro-shrinking in the pickling process. The contents of the phospholipid in the skin decreased during the pickling.

Clear Schiff's reaction was seen in the waste-liquor of pickling. The more decreased were the lipid contents in the pickled skin, the higher the contents of volatile compounds in the skin. The acidic tanning effect of pickling may be attributed to the tanning activity

of these carbonyl-compounds,

Chrome tanning, accompanied by pickling, was assumed to be an excllent method for the tanning of fish-skin containing much lipid.

III. Condition of chrome tanning.

It was ascertained that the skin was almost nearly stable in the process of deliming and peckling. The pH value and the percentage of sodium-thiosulfate to chrom-alum in the best chrome-tanning-liquor were about 3.0 and 60% respectively.

There was no proportional relationship between the amount of chrome combined with the leather and Ts of the leather. The combined chrome and Ts of the leather prepared by the double tanning with K-alum, was (found to be) far more increased than of the leather prepard through the sulfuric acid pickling, though inferior physical properties were ascertained in such leather.

The amount of chrome combined with the skin was in proportion to the concentration of chrome liquor, and that in diluted chrome-liquor was larger than in case of the undiluted one. When the combined chrome was over 2% per the leather weight, the tention of the leather decreased gradually.

IV. Reactivity of skin-protein to chrome ion in chrome tanning.

In order to make clear the relation of carboxyl group of skin-protein and its reactivity fowards chrome ion, the influence of esterification of limed skin upon the amount of the combined chrome, sulfuric acid and Ts of the leather was investigated.

Every value of the leather subjected to esterification was considerably lower than that of the one subjected to no esterification, the value being almost constant from the first, having no relation with the liming period. The reactivity of carboxyl group of skin-protein towards chrome ion was clearly ascertained by these results. Furthermore, it was concluded that the liming treatment played a important role for the binding of skin with chrome.

目　　次

緒　　言…… 72
第 1 章　魚皮の石灰漬について…… 73
　I　石灰漬中における溶出窒素量…… 74
　II　石灰漬中における形態別窒素量の変化…… 77
　III　石灰漬中に溶出するアミノ酸…… 81
　IV　石灰漬中におけるオキシプロリンおよびアルギニン…… 84
　V　石灰漬による熱収縮温度の変化…… 87
　VI　小　　括…… 89
第 2 章　鞣製工程中における魚皮中の脂質の変化について…… 以下次号
　I　石灰漬処理中における脂肪量の変化……
　II　浸酸処理による脂肪量の変化……
　III　浸酸処理による燐脂質およびカルボニール体含量の変化……
　IV　小　　括……
第 3 章　クロム鞣製における鞣製条件の検討……
　I　脱灰および浸酸時に溶出するアミノ酸……
　II　クロム鞣液の還元度および pH が鞣革に及ぼす影響……
　III　鞣液濃度および液量が鞣革に及ぼす影響……
　IV　小　　括……
第 4 章　クロム鞣法における魚皮とクロムイオンとの
　　反応についての一考察……
　I　石灰漬処理による鞣革の性質の変化について……
　II　エステル化された石灰皮とクロムイオンとの反応について……
　III　小　　括……
第 5 章　総　　括……
　参　考　文　献……

緒　　言

およそ水産物は，主としてその可食部が利用されてはいるが，資源活用上それに伴う副産物的不可食部の利用もまた重要であることは言うまでもない．本来原始産業に属する水産業が産業として安定ないしは発展し，他の産業に比肩して行くためには，水産物が余すところなく資源視され，かつそれが充分に活用されるようにならなければならないことは，何れの原始産業の場合でも同様であると言えよう．不可食部の副産物としての利用または活用慣習としての主なるものを挙げると，それは農用魚粉，魚肥[1),2),3)]工用魚油および薬用素材としてであるが，なおその他の副産物的資源の相当量は，その利用法が開拓されないままに，止むなく廃棄にも等しい処理のままになっていることは衆知のことである．

そこでこの様な資源の一つである魚皮による皮革および魚膠製造[5)~10)]，特に魚皮の皮革としての利用のために，すでに著者[11)]は魚皮についての物理的化学的な基礎研究[11)]を行ない，主な皮蛋白であるコラーゲンの性質その他を解明し水産資源の活用の一助にしたいと考えた．ひるがえって広く皮革について考えてみると，勿論陸上動物皮特に牛皮に対する必需性は圧倒的に大きく，その秀れた特長，特質[15),16),17)]は現代なお如何に化学的に進歩した擬革ないしは代用化工品をもってしても，及ぶことの出来ない長所として貴ばれ，その需要は増大して来たのである．しかし魚皮においても，その長所を充分に発揮させることが出来れば，陸上動物皮と同様に大いに利用価値があると思われる．

由来海洋資源に属する動物皮の利用[18),19)]についての実際および研究は，陸上皮に準じて古くよりなされ，20世紀頭初には Stevenson (1903)[20)]の成書があるが，その内容の大部は海獣についての毛皮および革についてであった．Willson (1923)[21)]の成書が発行された頃にはサメ皮等の利用について数々の研究報告[22)~37)]が続出したが，なお幾多の研究余地を残したままになっている．そしてこの研究余地は主として基礎的な化学的解明に俟たねばならない点が多いと考えられその点最近においてて注目されるのは，高橋豊雄ら (1957)[4)]による製革原料としてのサメ皮の諸性質についての研究報告であって，代表的魚皮であるサメ皮についての知見が一段と発展せしめられている．魚皮が従来ほとんど利用されていない一つの理由は魚皮が廃棄物として放置されたままで，進んでその利用面に着目されなかったため，研究対象として疎んぜられがちであったためとも考えられる．

戦時中我が国においては，皮革が欠乏したため魚皮の利用が考えられたが，魚皮についての基礎的知見のないままにサメ皮の集荷や利用が奨励され，サメ皮に対しては臨時日本皮革標準規格が制定されて，大いにその量産がなされた．しかし戦後，哺乳動物皮革の入手が容易になるにおよび，魚皮は次第に影を没した．すなわちサメ皮の生産量は1941年には2350 t であったものが1948年には 516 t に減少している．このことは水産資源としての魚皮利用にたづさわった研究者[38)~50)]および水産関係の研究者の一人として魚皮利用についての新生面を開かねばならぬことを痛感させる．

ところで幸い，タンパク質化学の研究が躍進するに伴ない動物皮のタンパク質の構造の解明が行なわれ，皮に関する基礎的研究が進歩し，ことに最近の 4 ～ 5 年間においては，哺乳動物皮に関して克明な報告がなされており，現在ではコラーゲンとエラスチンとの区別が判然としかねる等と指摘される域にまで進歩していることは実に注目に値する．

陸上動物皮とともに，魚皮についても，特に大量集荷が割合可能なサメ皮を取り扱ったものが多く報告されている．中でも高橋豊雄ら (1957)[4]およびEASTOE (1957)[35]は多くの研究を綜合の上，追試をも重ねて，魚皮の化学的解明に一段の成果をあげている．これらの研究者の説から考えれば，従来筆者 (1933)[11]，山田紀作 (1942)[12]，高橋他 (1957)[1]らおよびその他の研究者による憶測，すなわち哺乳動物皮に比らべて，魚皮革の品質について，その感触が粗放，剛直であったようなこと，ないしは，耐熱度が低いと言う様な数々の劣点は，本来魚類の生活生理に基くものではないかとの憶測が正しいのではなかろうかと考えられる．GUSTAVSONら (1942)[60]は，魚皮と哺乳類皮とを対比して，皮の本質であるコラーゲンを構成するアミノ酸の種類，含有量，およびその結合状態には両者間に差違が認められることを指摘している．そこでこれらの差異に基づく特質を考慮しながら魚皮の性質を一段と攻究し，あわせて実際技術面からの条件等を考究すれば，必ずや魚皮革としての新生面を拓き得るであろうと信じられる．こうした点については高橋ら (1957)[4]も独特な嗜好に合致する魚皮革製造について示唆している．この様な意図から，一つには水産物の硬タンパク質の性状解明を試みる必要を痛感し，一方では実際的水産物加工に応用出来るような基礎的知見を求める目的で，魚皮についての研究を進めて来た．すなわち鞣製法の過程に順応しながら，特にクローム鞣法において，その諸工程中重要であろうと考えられる部分について，検討を試みた結果をここにまとめてみた．

この一論文が水産資源である魚皮利用のために，少しでも役立つものであれば幸いと思う次第である．

第1章　魚皮の石灰漬について

哺乳動物皮およびその鞣製処理過程における諸問題のうち鞣製上の重要な処理操作である石灰漬については，従来数多くの研究[4),21),55),57)]がなされており，石灰漬による哺乳動物皮の皮タンパク組成の変化に関してはTHEISら (1941)[53]および豊田 (1951)[58]により詳細に研究されている．しかしながら魚皮については特殊性があるためか，あるいは等閑視されているためか，これに関する研究は多くない．このことは清水 (1940)[59]が啓蒙の力を注ぎ，また高橋ら (1957)[4]は鮫皮について詳細な研究報告をしている．GUSTAVSON (1942)[60]は魚皮の化学的性質について基礎的な示唆をしている．すなわち牛皮コラーゲンにおいては，そのポリペプチド鎖に存在するペプチド結合が，隣接するポリペプチド鎖のペプチドとの間に水素結合を形成して，その集合体を強化しているが，魚皮コラーゲンのペプチド結合は牛皮のように多くの水素結合を作らず，したがってその集合体は不安定であるとしている．そこで高橋ら (1957)[4]は獣皮コラーゲンと魚皮コラーゲンとの差異がそれらの側鎖結合の差によるということが事実ならば，両種コラーゲンのポリペプチド鎖を構成するアミノ酸の種類，含有量およびその配列順序等に何等かの差異がありそうに思われると述べている．

石灰漬についての従来の解釈によれば，その目的は一般に微アルカリ可溶性タンパクを溶出除去し，脂肪を鹸化し，脱毛を促進せしめ，鞣製に好都合ならしめるという説明が多い．そして本質の変化についての研究は少なく，ひいては鞣製工程への影響などについても基礎的な解明や検討は少ないようである．

先に，筆者(1950)[61]魚皮革が牛皮革が牛皮革等に比して，すこぶるその感触において粗剛であり，豊感を欠ぎ，張力はあってもなお耐熱温度が低いことなどはすべて魚皮本来の性質

によるのであろうと考えた．しかし石灰漬中において皮コラーゲンの分解が考えられるからその分解の程度如何によって，ある程度魚皮の短所をおぎない得るかもしれないとの予想を持ちつづけて来た．そこで筆者は，生皮が石灰漬中において，その皮タンパク質組成の変化すなわち構造の変移を来たし，皮としての性質が変化し，ひいては鞣剤との結合にも何等かの影響がみられるものと推測し，前述のような諸研究を基として，魚皮についての基礎的研究を始めるに当り，先ず石灰漬が生皮本質におよぼす効果を知ることが特に重要であろうと考え，検討することにした．試料には魚皮のうち，代表的なものであり，かつ入手しやすい鮫皮を主として用いた．

I 石灰漬中における溶出窒素量[62]

実 験 方 法

I．試料皮の調製

新鮮なアオザメ *Isuropsis glauca* (Müller & Henle), シュモクザメ *Sphyrna zygaena* (Linne), キハダマグロ *Neothunnus macro-pterus* (Lowe), およびシイラ *Coryphaena hippurus* (Linne) の皮を鉈打ちし，充分に水洗後各魚皮を約5g(3×5cm)に切断し，これを乾布でおおい手で圧し水気を拭い去って用いた．比較対照するための陸上動物皮には牛皮を用いた．牛皮は頸部皮で屠場より入手した．この牛皮を手入れして水洗し，飽和石灰液に3日間浸漬後脱毛し，石鹸で脱脂し，充分水洗した後乾布で水気を拭い去り魚皮と同じように切断して用いた．

2．石灰漬および石灰液中の窒素の測定

石灰液は生石灰を用いて調製し，広口瓶に入れて用いた．石灰漬はこの石灰液に試料皮を投入し，密栓して23°C 前後の水槽中に放置して行ない，時々振盪して72時間後試料をとり出し，充分水洗し，この洗液と石灰液とを合わせ，東洋沪紙 No. 2 で沪過して一定容とした．この一部を採ってケールダール法で窒素量を測定し，生皮に対する%で表わした．同時に試料皮中の窒素量をもあわせて測定した．(石灰漬の温度は不適であろうことは承知して行った)．

3．石灰液中に存在する窒素化合物の揮発

1%塩化アンモニア溶液200ml中に CaO- を1，5，10，20 および40g含有させ，23±1°Cで24時間放置した後液中の窒素量を求め生石灰液中に存在する窒素の揮発程度を測定した．

実 験 結 果 お よ び 考 察

実験A．試料皮の組成

石灰漬処理前の試料皮の一般組成および乾燥皮に対する鱗の重量%はそれぞれ Table 1 および Table 2 に示す通りであった．サメ皮のコラーゲン含有量は12%前後であって高橋ら (1954)[68] と同様な結果を得た．牛皮コラーゲン量は測定しなかったが，一般に 31～33% とされており[4]，さめ皮コラーゲン量は牛皮より非常に少ない．

実験B．石灰液濃度および石灰漬処理日数による溶出窒素量の変化

実験B－1

種々の濃度の石灰液200mlを用いて石灰液濃度と溶出窒素との関係をみた結果は，Fig. 1 のようであって CaO 濃度が3～5 g/L溶液では溶出窒素が増加し，石灰濃度がそれ以上になると溶出窒素量は減少した．これは豊田 (1951)[58] が兎皮を用いて行なった結果とは異なっている．すなわち豊田は，3 g/L附近までは石灰濃度が増加するに伴なって溶出窒素量も次

Table 1. Composition of several fish sknis·

Sample skin	Moisture (%)	Ash (%)	Total-N (%)	Collagen* (%)
Blue shark** skin	67.92	14.62	12.42	11.74
Hammer-head shark§ skin	64.45	17.14	13.06	12.84
Yellow fin tuma§§ skin	58.55		12.17	
Dolphine-fish† skin	64.47		10.85	
Cattle hide	70.34		17.76	

* determined by FITCH's method[92].
** Isuropsis glauca (MÜLLER & HENLE)
§ Sphyrna zygaena (LINNE)
§§ Neothunnus macropterus (LOWE)
† Coryphaena hippurus (LINNE)

Table 2. Per cent of placoid scale of fish skin.

Sample skin	scale (%)*
Blue shark skin	14.85
Hammer-head shark skin	17.71

* showed as per cent of dried skin

第に増加するが，それ以上石灰量が増加しても溶出窒素量はほとんど増加せずほぼ一定の値をとることを見ている Fig. 2 の皮中の窒素含量変化をみると，CaO 5g/L までは減少し，それ以上の濃度においてはほとんど一定となり，豊田の結果と一致する．しかし CaO 5 g/L 以上では溶出窒素量が減少することは，Fig.2 の結果との相関性からみて不合理である．すなわち CaO 5 g/L 以上では皮中の窒素量はほとんど一定値を示しているのに溶出窒素量は減少する結果を示している．このため同一試料について再度実験を行なったが，その結果は同様であった．このことについては，過剰の石灰中に窒素成分が附着したまま残ったのではないか，またはアルカリ性 (pH 12) であ

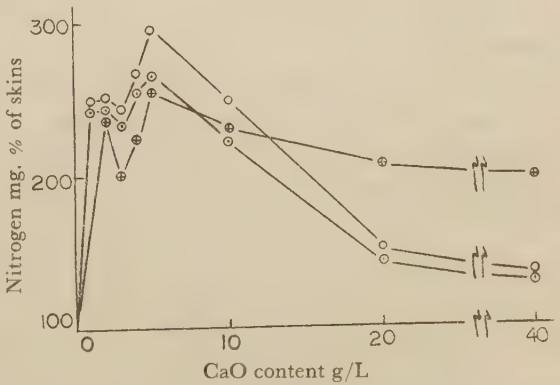


Fig. 1. Relation CaO content g/L in lime water and the nitrogen dissolved out in to lime water from skin.
○, ⊙ Blue shark skin. ⊕ Hammer-head shark skin.

る石灰液中の窒素化合物の一部が揮発逸散するため減少するのではないかとも推定される．この推定を確認するための実験を行ったがその結果はともに否定的であった（後者の結果をTable 3に示した.）従がってその原因は今の所明らかでない．いずれにしてもFig. 1およびFig. 2よりCaO 5 g/Lで溶出窒素量は最大となり，それ以上の濃度ではほぼ一定となるものと思われるから，石灰液の生石灰濃度は5 g/L前後を用いるべきであり，また実際製革上5 g/L以下のような低濃度のものは用いられていない．

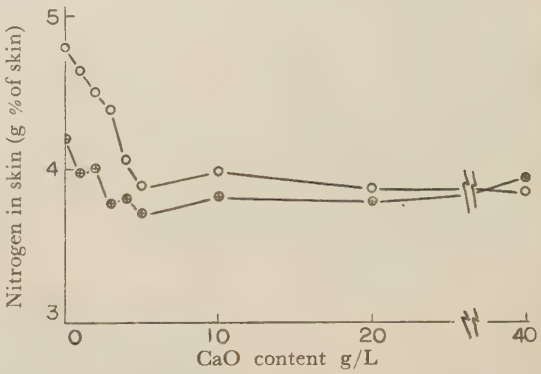


Fig. 2. Felation between CaO content in lime water and the nitrogen in skin.
○ Blue shark skin. ⊕ Hammer-head shark skin.

Table 3. Volatility of NH_4Cl-N in liming water.

CaO content (g./200ml. of 1%NH_4Cl)	Nitrogen (mg./200ml.)
0	420
1	408
5	394
10	412
20	422
40	420

Nitrogen was determined after incubation for 24 hrs. 23±1°C.

実験B－2

CaO 5 g/Lの溶液100ml，200mlおよび500mlを各々広口瓶にとり，これに試料皮を浸漬し実験B－1と同様にして溶出窒素量を測定した．また石灰液のpHを試験紙で調べた．石灰漬中における石灰液のpHは11.8～12.2程度であって余り変化を認められなかった．溶出窒素量は，Fig. 3に示すように液量の多少にかかわらず処理日数をともに増加した．これ

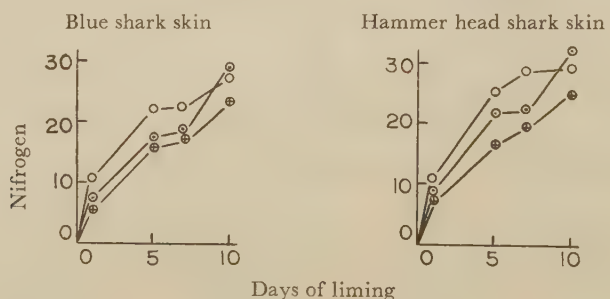


Fig. 3. Changes in the nitrogen dissolved out into lime water from skin.
The volume of lime water was 100ml. (○), 20oml. (⊙) and 500ml, (●) respectively.
The nitrogen was showed as mg. per 5 g. of skln.

をさらに検討すると5日目まで傾斜の急な溶出カーブを示し，5～7日目にはやや緩慢となり，さらに7～10日目になると再び溶出カーブは急傾斜となる傾向が見られた．これは初めの5日間においては易溶性の窒素成分が溶出し，5～7日では一応易溶性窒素がほとんど溶出して平衡的状態になっているのであると考えられる．豊田（1951）[58]も兎皮の石灰漬について同様なことを報告をしている．7～10日目になると容易に溶出し難い成分の分解が起るため，再び溶出カーブが急変化を示すのであると考えられる．石灰液量により溶出窒素量がどのように変るかを処理日数別にみるとTable 4 に示すように溶出窒素量に対する液量の影響は少なかった．この結果はタンパク態窒素を石灰水にて抽出する場合の液量，時間，振盪程度について佐藤（1955）[72]が得た結果と同様であった．

Table 4. The nitrogen in the shark skin which was immersed in various volume of lime water.

Kind of skin	Volume of lime water (ml.)	Nitrogem (mg. % of raw skin) Days of liming 1	5	7	10
Blue shark skin	100	211.4	438.0	452.2	541.8
	200	174.2	356.4	377.6	561.0
	500	124.2	337.0	379.0	470.6
Hammer-head shark skin	100	205.8	513.6	393.6	606.4
	200	192.2	436.0	453.8	644.2
	500	165.0	330.4	406.4	509.6

II 石灰漬中における形態別窒素量の変化[63]

実 験 方 法

1．試料の調製

新鮮なアオザメ皮を充分に水洗し銓打したものを用いた．比較対照として牛皮を用いた．処理は1のIと同様である．この試料皮をCaO 20g/Lの溶液200ml中に入れて密栓し25°C水槽中に入れ時々振盪し，一定時間後試料皮をとり出し充分水洗した．その洗液と石灰液とを合わせて東洋沪紙No. 2を用いて沪過し一定容とした．

2．定量方法

上記試料を用いて石灰液への溶出窒素成分および皮中に残留している成分の変化を夫々次のごとき方法によって形態別に分析定量した．

(1) 溶出全窒素量：ケールダール法により石灰液中の窒素量を求め，試料皮組成中の全窒素量に対する%として示した．

(2) アンモニヤ態窒素：常法にしたがい[94]定量し，試料皮全窒素量および溶出窒素量に対する%で表わした．

(3) メタプロテイン態窒素：試料に10%三塩化醋酸溶液を加えて生ずる沈澱を分解定量した．

(4) 各種アミノ態窒素：試料の一定量を20%塩酸で加水分解して常法に従い定量した[95]．

(5) 処理皮中に残存する成分の分析：石灰漬を終った試料皮の窒素を定量し，処理前の試料皮の全窒素量に対する%を求め，また一部を20%塩酸で加水分解した後，常法にしたがいアミド，フミン，ジアミノ，およびモノアミノ態窒素を定量した[95]．

実験結果および考察

実験A. 石灰漬処理中における皮中窒素量および溶出窒素量の変化

魚皮に対する石灰漬の適度を検討するとともに，魚皮の性質を明らかにする目的で，まず石灰漬による皮蛋白質の分解程度をみるため，試料皮全窒素量および石灰液中への溶出窒素量を定量した．

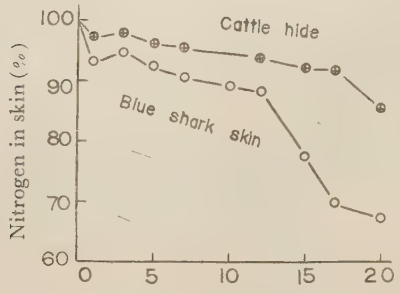


Fig.4. Changes in the amount of the nitrogen in blue shark skin and cattle hide.

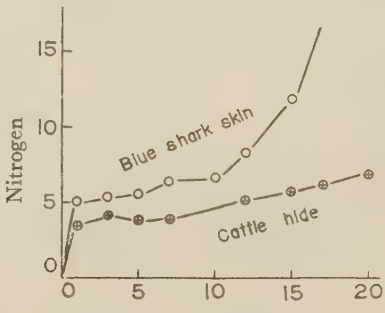


Fig.5. Changes in the amount of the nitrogen dissolved out into lime water from blue shark skin and cattle hide.

The nitrogen was expressed as per cent of total nitrogen in the skin.

Table 5. Composition of blue shark skin and cattle hide.

Kind of skin	Moisture (%)	Total-N (%)	Ammonia-N* and amino-N	Humin-N*	Diamino-N*	Mono-amino-N*
Blue shark skin	71.22	12.38	3.4	1.2	27.4	71.7
Cattle hide	70.34	17.76	2.9	2.1	27.6	67.5

* showed as per cent of total-N

Fig. 4 および Fig. 5 にその結果を示す．なお試料皮の一般組成は Table 5 のようであった．皮に残存する窒素量は石灰漬処理日数とともにサメ皮でも牛皮でも減少するがサメ皮では12日目頃から牛皮では17日目当たりから可成り減少する傾向を示した．一方溶出窒素量は増加した．木塚 (1954)[64]によれば犢皮は石皮漬により難溶性タンクパク質も僅かづつ分解するが，石灰漬が長期にわたれば，その溶出量は増加し，コラーゲンの主要含有アミノ酸の溶出が認められるので，石灰漬は18°Cにおいて20日前後が好適であると結論し，かつ好適な石灰漬期間は物理的条件の影響，すなわち処理温度の差に基く影響が大きいと述べている．本実験の石灰漬温度は25°Cであって木塚の場合とは異なるがサメ皮は10日前後，牛皮では17日前後が好適であった．石灰漬中における魚皮と牛皮の差は明らかに認められた．すなわち牛皮の場合窒素量の変化は緩慢な経過をたどるがサメ皮においては急変化の傾向が認められた．これらのことからサメ皮はおそらくタンパク質組成または構造が牛皮とは異なるのであろうと想像され，明らかに魚皮は牛皮よりその性質が劣り，石灰液の影響を著しく受けやすいものと思われる．

実験B．溶出窒素成分の性状

石灰漬処理中における蛋白分解の程度の目安として溶出したアンモニヤ態窒素およびメタプロテイン態窒素の測定を行った．その結果は Table 6 および Table 7 のごとくである．

Table 6. The ammonia-N content in the lime water which was used for the liming of skin.

Fraction	I		II	
Days of liming	A	B	A	B
1	0.69	20.3	0.31	36.0
3	0.70	14.7	0.74	31.6
5	0.92	13.7	0.82	31.2
7			1.20	30.6
10	1.10	14.1		
12	1.07	9.0		
15	1.50	8.7	1.67	28.7

I : Blue shark skin was used for liming.
II : Cattle hide was used for liming.
A : showed as per cent of the total nitrogen in skin.
B : showed as per cent of the nitrogen in lime water.

Table 7. Change of the metaprotein-N content in the lime water which was used for the liming of skin.

Fraction	I	II
Days of liming		
1	1.4	0
3	2.4	0
5	4.5	0
7	5.7	0
10	8.9	0
12	8.8	0
15	10.8	0

Figures was showed as per cent of the total nitrogen in skin.
I, II : see Table 6.

Table 6 よりアンモニヤ態窒素量は処理日数とともに増加し，一方溶出全窒素量に対しては次第に減少しており，その程度は牛皮よりサメ皮にはなはだしい．メタプロテイン態窒素は牛皮を石灰漬した石灰液中には全然認められなかった．これは前処理の相違によるのであるかもしれないが，牛皮とサメ皮の著しい相違点の1つである．

以上の結果からして皮コラーゲンは，木塚 (1954)[64]の推論のごとくある種の窒素，主としてコラーゲン蛋白分子中の酸アミト基が加水分解を受けてアンモニヤを生成するのであろうと思われる．

実験C．石灰漬処理によるコラーゲン窒素の変化

石灰漬処理をした皮の窒素および石灰液中へ溶出した成分の窒素の形態をしらべ，元の試

料組成と比較を行ない，皮コラーゲンの窒素分布の変化を調べた．その結果は Table 8 および Table 9 のごとくであった．

Table 8. Distribution of the nitroge in the shark skin which was subjected to liming and the nitrogen dissolved out into lime water from the skin.

Fraction	Form of nitrogen	Nitrogen (% of the nitrogen in the skin) Days of liming 0	1	3	5	7	10	12	15
Nitrogen in skin	Ammonia-N and amido-N	3.4	3.1	3.3	2.8	2.8	2.5	2.2	2.0
	Humin-N	1.2	1.4	1.2	1.2	1.2	1.1	1.3	1.2
	Diamino-N	27.4	25.5	28.7	23.1	24.5	24.2	22.6	20.6
	Monoamino-N	71.7	70.5	71.2	73.2	72.5	72.3	73.5	76.4
Nitrogen in lime water	Ammonia-N and amido-N		5.4		14.9	17.4	17.4		
	Humin-N		1.5		1.6	1.7	1.4		
	Diamino-N		20.2		20.1	20.0	26.3		
	Monoamino-N		69.2		69.0	65.4	55.9		

Table 9. Distribution of the nitrogen in the cattle hide which was subjected to liming and the nitrogen dissolved out into lime water (from the skin.)

Fraction	Form of nitrogen	Nitrogen (% of the nitrogen in skin) Days of liming 0	3	7	10	15
Nitrogen in skin	Ammonia-N and amido-N	2.9	2.2	2.1	1.9	2.1
	Humin-N	2.1	1.6	1.6	1.7	1.9
	Diamino-N	27.6	25.9	22.3	20.0	21.6
	Monoamino-N	67.5	71.2	75.1	76.3	74.8
Nitrogen in lime water	Ammonia-N and amido-N			10.0	9.8	9.8
	Humin-N			2.3	2.3	2.5
	Diamino-N			22.2	23.2	23.7
	Monoamino-N			69.1	70.2	70.4

これらの結果は，皮コラーゲンが石灰漬によって僅かづつではあるが分解していることを示している．皮中のアンモニヤおよびアミド態窒素量は減少し，反対に石灰液中に溶出した成分の中アンモニヤおよびアミド態窒素量は増加した．Stubbing (1949)[65] も皮中のアミド態窒素がその処理時間とともに減少することを報告している．Beek 等 (1953)[66] は石灰漬処理によってコラーゲンの酸アミド基が著しく水解され，その結果活性のカルボキシル基と遊離のアンモニヤが生成されることを証明している．アンモニヤ態窒素量とアミド態窒素量の和は，量的にサメ皮の方が牛皮より多く，その石灰液中への溶出量も魚皮では牛皮の約2倍量であった．フミン態窒素量はサメ皮よりも牛皮の方が約50%多い．ジアミノ態窒素量では，その変化は少ないようであり，僅かに魚皮中の残存量が牛皮のそれより多い．このように皮の各種形態窒素の溶出には難易があるが，難溶性蛋白質も僅かづつ分解することを示し

ている．

Ⅲ　石灰漬中に溶出するアミノ酸[63]

すでに記したように魚皮のコラーゲンのペプチド結合は牛皮のように多くの水素結合をつくらないため，その集合体は不安定であるとGustavson (1942)[60]は述べており，さらに高橋ら (1957)[4]は，両者の差異が，それらに存在する側鎖結合の差によるならば，これらのポリペプチド鎖を構成するアミノ酸の種類，含有量および配列順序等に何等かの差異がありそうに思われると指摘している．本来サメ皮等についてのアミノ酸の組成に関する報告には最近高橋ら (1957)[4]のものがあり，さらにEastoe (1957)[51]により哺乳類肺魚，および魚類のコラーゲン構成アミノ酸について総括的に報告されている．またGustavson (1942)[60]はタラ等について魚皮コラーゲンは牛皮コラーゲンより不安定であるとみている．牛皮から石灰液中に分解遊離するアミノ酸については菊地等 (1953)[67]の詳細な報告があり，また猿皮石灰漬中における，アミノ酸分布の変化については木塚 (1954)[64]の克明な報告もあるが，サメ皮等魚皮石灰漬中における溶出アミノ酸の分布変化についての報告は今のところ見当らない．よってこの点につきペーパークロマトグラフイにより検討を加えてみた．

実　験　方　法

1．材料皮および分解試料

アオサメ皮および牛皮を用いた．

2．サメ鱗の採取および分解試料の調製

アオサメ皮に5倍量の水を加えて，加熱しながらガラス棒で皮を摩擦して鱗を剝離し，熱水で数回洗滌した後分解し，試料とした．

3．石　灰　漬

CaO 5 g/Lの石灰液を用い，これにアオサメ皮または牛皮約5 g（3 × 4 cm）を浸漬して，23±1°Cに放置した．

4．石灰液および石灰処理した皮からの試料調製

一定経過日数ごとに石漬液中の試料皮を取り出し，石灰液を東洋沪紙No. 2で沪過した沪液およびその沪液を6 N塩酸で加水分解したものをそれぞれ濃縮して試料とした．

5．ペーパー・クロマトグラフイ

沪紙は東洋沪紙No.50を用い二次元展開を行った．展開剤としては一次元に25%水添加フェノール次いでブタノール：酢酸：水＝4：1：1を用い，15±3°Cで24時間展開した．発色は水飽和ブタノールに溶解したニンヒドリン0.2%溶液を用いた．Rf は予じめ Ca イオンの影響を検討して決定した．

実　験　結　果

実験A．サメ皮および鱗のアミノ酸分布

先ず試料の基本調査として，サメ皮とその鱗についてその構成アミノ酸を調べた．その結果は，Table 10のごとくであって，サメ皮からは大部分のアミノ酸が検出されたが，鱗からは高橋および横山 (1954)[68]の報告と同様にプロリン，アルギニンはみられなかった．

実験B．石灰漬処理中にアオサメ皮から溶出するアミノ酸の消長および石灰液量がアミノ酸溶出におよぼす響影．

Table 10. Detected amino acid in hydrolyzed blue shark skin and its placoid scale.

Amino acid	skin	scale
Glycine	++	++
Glutamic acid	++	++
Cystine	++	++
Alanine	++	++
Leucine	++	+
Serine	++	++
Valine	++	±
Tyrosine	++	+
Aspartic acid	++	++
Lysine	++	++
Arginine	++	−
Phenylalanine	++	−
Proline	++	−
Hydroxyproline	++	−

Two dimensional paper chromatography was used.
Solvent: 1, phenol : water = 75 : 25
2, butanol : acetic acid : water = 4 : 1 : 1
Colour reagent: water saturated butanol 0.2% ninhydrin solution.

Table 11. Detected amino acids in the lime water which was used for the liming of blue shark skin

Volume of lime water (ml)	100								200								500							
Days of liming Fraction	1		5		7		10		1		5		7		10		1		5		7		10	
Amino acid	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Glycine	−	−	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+	+	+
Glutamic acid	−	−	+	+	−	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−	+
Cystine	−	−	−	−	±	±	−	+	−	+	−	+	+	+	+	+	−	−	−	−	±	±		±
Alanine	−	−	±	+	+	+	+	+	−	−	−	+	+	+	+	+	−	−	−	+	±	+	+	+
Leucine	−	−	±	+	−	+	−	+	−	±	−	−	±	+	−	+	−	−	−	+	+	+	±	+
Serine	−	−	−	+	−	+	−	+	−	−	−	+	+	+	+	+	−	−	−	+	+	+	+	+
Valine	−	−	−	+	−	±	±	+	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	+	±	+	±	+
Tyrosine	−	−	±	+	+	+	±	±	−	−	−	+	+	+	+	+	−	−	−	+	±	+	+	+
Aspartic acid	−	−	−	+	±	+	±	+	−	−	−	+	+	+	+	+	−	−	±	+	+	+	+	+
Lysine	−	−	−	−	±	+	−	+	−	−	−	+	−	+	−	+	−	−	−	+	−	+	−	±
Arginine	−	−	−	−	−	−	−		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	±	−	−
Phenylalanine	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Proline	−	−	−	−	−	+	−	+	−	−	−	−	−	±	−	+	−	−	−	−	−	−		+
Hydroxyproline	−	−	−	−	−	±	−	±	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	+
Unknown	−	−	3	1	3	1	1				2	2	2	3	1	1			3	1	2		2	3

A: Sample which was subjected to no hydrolysis.
B: Hydrolyzed sample.
See Table 10. on the method of paper chromatography.

アオサメ皮を100, 200および500mlの石灰液中に1，5，7，および10日間浸漬した石灰液について，アミノ酸を検出した結果は Table 11 のごとくであり，大部分のアミノ酸が検出された．全般的に各種アミノ酸の溶出に対する石灰液量の影響はほとんど認められなかった．このことは1実験Bの結果と一致している．溶出アミノ酸の消長については，第一日目の水解しない試料中には全くアミノ酸は検出されなかったが，これを加水分解したものからは明瞭にグリミン，グルタミン酸およびシスチンが認められた．5日目の遊離アミノ酸は，グリシン，グルタミン酸，アスパラギン酸，アラニン，ロイミンおよびチロジンであり，これらの皮よりの溶出が比較的速やかであることが分かる．7日目に及んで加水分解物中に皮タンパク構成アミノ酸でさるプロリンおよび，不明瞭ながらアルギニンが現われた．このことはペプチッド状のものが遊離し，皮の本質そのものが徐々に分解され始めていることを示すものと考えられる．10日目にはプロリンおよびオキシプロリンが明りょうに検出されたがこれは皮の分解が相当に進み，皮コラーゲンが犯されてきたとみなされる．

実験C．アオサメ皮および牛皮から石灰液中に溶出するアミノ酸の消長

アオサメ皮と牛皮とを用い，石灰液200ml中に25ないし30日間浸漬し，石灰液中に溶出するアミノ酸の消長を調べた．

アオサメ皮および牛皮についての実験結果をそれぞれ Table 12および Table 13に示す．両者につき比較対照してみると全体的には，サメ皮の方が初期において強固のようにみえるが，7日目以後には，急に分解が増加することを示している．すなわちサメ皮7日目の方が，牛皮の12日目のものよりも遥かに多くのスポットが検出されている．特にプロリン，オキシプロリンおよびアルギニンについてみると，プロリンはサメ皮では，7日目から検出さ

Table 12. Detected amino acids the lime water which was used for the liming of blue shark skin.

Days of liming / Fraction	1		3		5		7		10		12		15		17		20		25	
Amino acid	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Glycine	−	++	+	−	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++		++	++
Glutamic acid	−	++	−	−	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++		++	++
Cystine	−	++	−	−	−	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++		++	++
Alanine	−	−	−	−	−	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++		++	++
Leucine	−	+	−	−	−	−	+	++	−	++	−	++	−	+	++	++	++		++	++
Serine	−	−	−	−	−	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++		++	++
Valine	−	−	−	−	−	−	−	−	−	++	−	++	−	++	++	++	++		++	++
Tyrosine	−	−	−	−	−	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	−		±	++
Aspartic acid	−	−	++	−	+	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++		++	++
Lysine	−	−	−	−	−	++	−	++	−	++	++	++	++	++	++	++	++		++	++
Arginine	−	−	−	−	−	±	−	±	−	−	−	+	−	+	+	++	+		++	++
Phenylalanine	−	−	−	−	−	++	−	++	−	++	−	++	−	++	++	++	++		++	++
Proline	−	−	−	−	−	−	−	+	−	++	−	++	−	++	+	++	++		++	++
Hydroxyproline	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	++	+	++	++		+	++
Unknown	+		+				+													

A, B : see Table 11.
See Table 10. on the method of paper chromatography.

Table 13. Detected amino acids in the lime water which was used for the liming of cattle hide.

Days of liming	1		5		12		15		17		20		25		30	
Fraction / Amino acid	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Glycine	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Glutamic acid	−	−	−	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Cystine	−	−	−	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Alanine	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Leucine	+	+	++	++	+	++	++	++	++	++	++	±	+	+	+	+
Serine	+	+	++	±	++	++	++	++	++	++	++	±	−	±	−	−
Valine	±	−	−	−	+	+	+	+	++	++	++	±	++	±	+	+
Tyrosine	+	++	++	++	+	+	++	+	++	++	++	+	−	±	−	−
Aspartic acid	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+
Lysine	−	−	+	±	++	+	++	+	++	++	++	+	−	−	−	−
Arginine	−	−	−	−	+	+	+	+	++	++	++	+	++	++	++	++
Phenylalanine	−	−	−	−	−	−	−	−	++	+	++	+	+	+	+	+
Proline	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+	++	+
Hydroxyproline	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+	+	++	+
Unknown	+		+													

A, B : see Table 11.
See Table 10 on the method of paper chromatography.

れたが牛皮では17日目に現われている．オキシプロリンはサメ皮では12日目に現われ，一方牛皮では，17日目に現われ，30日目には明りょうに現われている．この牛皮についての結果は木塚 (1954)[61]が犢皮について得た結果と同様である．ちなみに木塚 (1954)[64]は犢皮の適当な石灰漬日数は約18日であるとしている．サメ皮では牛皮と異なり約23°Cで 7～10日 間が適当と考えられる．アルギニンについてはプロリンおよびオキシプロリンと同様サメ皮の方が早く検出されてはいるが，定量的になを検討の余地があるように考えられるので後で更に検討を加えることにした．

IV. 石灰漬中におけるオキシプロリンおよびアルギニン

前述のIIIに引き続き，皮組織からのオキシプロリン（以下 H.P. と略記）および アルギニン（以下 Arg. と略記）の溶出経過について定量的に検討することにした．とくに H.P. はコラーゲン構成アミノ酸のうち中軸的存在と考えられており，かつ H.P. 量が皮の熱水に対する安定度と関係のあることが Eastoe (1957)[54]その他によっていわれているので，コラーゲンに対する石灰漬の効果についての知見が H.P. を追求することにより得られるの ではないかと考えた．

実 験 方 法

1．試 料 の 調 製

アオサメ皮と銓打ちし，水洗後，1.5×5 cm（約2 g）の大きさに切断した．これを高橋等 (1954)[68),69)]の処理法にしたがい， pH 9.5の硼砂緩衝液（M/5 $Na_2B_4O_7$およびN/10NaOH）に24時間（10±2°C）浸漬し，アルブミン，グロブリンを除き，水洗し水切り後，エラ

スチンを除去するために0.1%トリプシン溶液（pH 7.8～8.0）を用いて20°Cで24時間消化させた．処理したものは CaO 5 g/L の石灰液200ml中に浸漬して23±3 Cに放置し一定経過時間ごとにとり出して実験に供した．石灰液より引上げた皮は水洗し，100°C で約8時間乾燥し，6 N-HCl を20倍量加え，20時間加水分解をした後，湯浴上で HCl ガスを出来るだけ逸散せしめ，中和後一定量として試料液とした．

2．H.P. の定量

Neuman& Logan 法の変法である銭谷（1956）[70]の方法により定量した．すなわち検液1 ml（H.P. 5～15r含有）に0.01MuSO_4 1 ml，2.5N-NaOH 1 ml，および6% H_2O_2 1 ml とを加え，5分間振盪し次いで80°Cで5分間激しく振盪しつつ加温する．これを15°C以下に急冷し，3 N-H_2SO_4 4 mlと*n* プロピルアルコール5%*P*-ジメチルアミノベンツアルデヒド溶液2 mlを加え，充分混和し，正確に65°Cで10分間加熱する．次に 25°C以下に冷却後オクチールアルコール2 mlを混和，静置した後色層を採り沪過後日立製作所製光電比色計EPO-A型によりS-53のフイルターを用い比色する．

3．Arg. の定量

坂口反応を応用する方法（1954）[71]によった．すなわち，検液 5 ml（Arg. 1～10r/ml 含有）を氷冷し，10% NaOH 1 mlおよび0.1%α-ナフトール1 mlを加え，よく混和し，5～10分水冷後，予め氷冷した，次亜臭素酸ソーダ0.2mlを加えて発色せしめ，15～20秒後，40尿素1 mlを加え，1分間後に日立製作所製光電比色計 EPO-A 型でS-50フイルターを用いて比色する．

実験結果および考察

実験の結果を Table14 および Fig. 6 に示す．なを参考の為生皮を種々処理した際における重量の変化を Table15に示す．

Fig. 6 よりサメ皮の H.P. 量は大体7日目当りまで変化は少ないが，それ以後は急激に減少し，10日目には最初の約1/3量に減少した．この結果は Eastoe（1957）[54] および Neuman（1950）による結果と一致し前述のペーパー．クロマトグラフィーによる実験においても

Table 14. Change in the anounts of hydroxyproline (H. P.) and arginine (Arg.).

Days of liming	Hydroxyproline (% of green skin)			Arginine (% of green skin)	
	H. P. in limed skin	H. P. in lime water	H. P. in limed, dried skin	Arg. in limd skin	Arg. in lime water
0	5. 20		12. 57 (50. 6)	2. 77	
1	5. 00		12. 21	2. 87	
5	4. 63	0. 005	12. 33	2. 00	0. 07
7	4. 10	0. 002	9. 56	1. 88	0. 06
10*	1. 54	0. 254	8. 04	0. 89	0. 47
15**	0. 37	0. 643		0. 12	1. 54

Blue shark skin was used.
* Sample skin decomposed slightly.
** Semple skin decomposed.
Moisture was showed in parentheses.

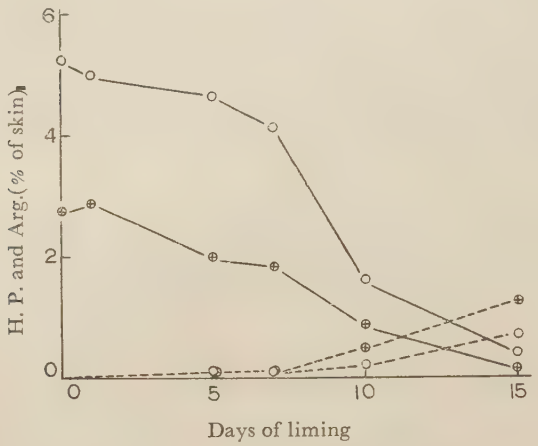


Fig. 6. Changes in the amount of hydroxyproline (H. P.) and arginine (Arg.) in blue shark skin or in lime water.

—○— H. P. in skin --○-- H. P. in lime water
—⊕— Arg. in skin --⊕-- Arg. lime water

Table 15. Change in the weight of blue shark skin by various treatments.

Sample	Weight of skin (g.)			
	green skin	dressed*	after liming	dried after liming
1	1.488			0.693
2	1.628			0.754
3	1.710	2.155		0.742
4	1.927	2.419		0.762
5	2.102	2.657	2.810	0.858
6	1.601	1.893	1.931	0.657
7	1.561	1.861	2.130	0.620
8	1.905	2.375	2.359	0·676
9	2.007	2.380	2.621	0.719
10	1.399	1.911	2.689	0.641
11	2.010	2.543	1.456	0.280
12	1.694	2.114	2.002	0.410
13	1.664	2.022	0.321	0.039
14	1.579	2.010	0.334	0.041

* beam worked and treated with 0.1% trypsin at 20°C. for 24 hrs.

H.P. は10日目の石灰液加水分解液中に検出されている．Arg. は H.P. と同様7日目あたりまでは変化は少ないが，それ以後は減少程度は H.P. 程ではないが減少し，また H.P. 同様前述のペーパー．クロマトグラフィによる定性的結果を確認し得た．哺乳動物皮に比べて魚皮の熱収縮温度（Ts）が低いのは，特にコラーゲン組織中の H.P. 量が少ないことにも関係が深いという説を支持する報告が Beveridge & Lucus 等 (1944), Gustavson (1955), Eastoe (1955) および Damodaran (1956) 等によりなされている．Table 14 に示すように，

乾燥皮重量に対する H.P. 量は，石灰皮の実質そのものについての量的表示をしたものであるが，5日以後からは急激に減少した．したがって前述の諸説のように H.P. の含有量が減少するにしたがってその Ts は低下することが予期される．ゆえに魚皮においては，石灰漬によって Ts の低下を防ぐとともに上昇を期待するためには，コラーゲンが分解する以前に石灰漬を終了すべきである．

Table16 は石灰漬日数とともにアオサメおよびシュモクサメ皮の Ts が如何に変化するかを示す．すなわち Ts は7日までほとんど変化ないがその後漸減し，上述の皮中の H.P. と Arg. の減少，従がって石灰液中への溶出の増加と関係あることが分る．これより石灰漬の好適期間は，このような温度（約23°C）では約7日間見当であると推定される．

Table 16. Change in the hydrothermal shrinkage temperature of raw skin during liming process.

Kind of skin	Hydrothermal shrinkage temperature. (°C.) Days of liming					
	0	1	5	7	10	15
Blueshark skin	55	53	50	49	47	46
Hammer-head shark skin	53	52	48	45	44	43

V　石灰漬による熱収縮温度（Ts）の変化

魚皮の Ts が低いことは，その中に含まれているオキシプロリンの量が獣皮に比べて少量であることに関係すると Theis ら (1941)[53]は主張している．このため前実験IVにおいてサメ皮の H.P. と Arg. を定量しかつ石灰漬中におけるその変化をも追求した．その結果 H.P. 量は，石灰漬温度23±3°Cの条件下において7日を経過する頃から減少し始め，その後急減し15日目頃にはほとんど失われ，同時に皮体は崩壊に近い外観を呈した．従って H.P. および Arg. がコラーゲンの中軸的構成成分であろうとの説を支持し，そしてまた石灰漬によっては Ts の向上は望み難いことを推論した．

高橋ら (1957)[73] は各種の魚皮について，その Ts の問題を攻究し，独得の測定装置を発案して，腐敗，自家消化，塩蔵あるいは石灰漬した場合における Ts と H.P. との相関性の有無について詳細に検討し，H.P. 以外に結締組織に存在するコンドロイチン硫酸がコラーゲンのポリペプチド鎖の束を結合させていることが Ts に関係するという Jakson (1953)[93] の説にも考慮の要があるとし，コラーゲンの分子間結合に H.P. が重要な関係がありそうだと慎重な考察を行なっている．そこで本実験では前実験と同様にサメ皮を用い，石灰漬，脱灰およびクローム鞣製を行ない石灰漬による影響を Ts について追求し，前実験での皮中の H.P. および Arg. 量の変化との関係を考察した．

実　験　方　法

1．試料皮および石灰漬

アオサメ皮を用い，その試料差を少なくするため大きさ1.5×7.0cm（約2.5～3.0g）に切断した銓打皮10枚を1組として，18±3°Cの飽和石灰液に石灰漬した．

2．脱　　灰

石灰漬してある皮を所定の経過日数ごとにとり出して塩化アンモニヤ2％液中に浸漬して

約30分間脱灰処理をした.

3. 浸酸およびクローム鞣製

脱灰した皮を2%硫酸，食塩5%溶液を用いて浸酸し1夜放置した試料をクローム鞣液に5日間浸漬（液温は18°±3°Cで特に加温しなかった）し，重曹で中和して鞣革とした．クローム鞣液は皮重量の5倍量を用いた．鞣液濃度は Cr_2O_3 として0.304%で食塩を5%になるよう加えた．その pH 値は約3.0であった.

4. Ts の測定

石灰漬してある皮を所定経過日数ごとに取り出して，そのままのもの，脱灰したものおよび脱灰後クローム鞣製したものとをそれぞれ薄片状に切り採り，さらに銀面と肉付面とを又状に分岐せしめたものを試料とし，これを水中に懸垂し，徐々に加熱して，皮片の先端又状部薄片が，彎曲し始める直前の温度を Ts として表わした.(勿論高橋も指摘しているように温水あるいは温度の急昇を行った場合は Ts の一定は認め難いことを承知して行った.)

実驗結果および考察

Table 17に示すように，石灰漬した皮の Ts は12日間までは変化しないが以後下降した．このことは前実験IIIおよびIVにおいて Ts に関係があるとされている H.P. 量が石灰漬処理

Table 17. Change in the hydrothermal shrinkage temperature.

Kind of skin	Hydrothermal shrinkage temperature (°C.) Days of liming												
	0	1	3	5	7	10	12	14	17	21	30	35	37
Limed skin	58		56	57	58	58	58	56	53	51.5	50	50	49
Delimed skin			48	53	53	53	53	53	52	51.5	51	51	51
Delimed, chrome tanned leather		78	84	84	84	84		84					

のある期間までは余り変化が認められなかったこととも一致する．なお脱灰皮の Ts は石灰皮よりは常に4～5°C低かった．従って石灰漬により Ts を上昇させることは望み難い．浸酸処理後クローム鞣製された革の Ts は，生皮のそれよりも約30°Cも上昇した．また Table 18はアオサメ皮を石灰漬した後クローム鞣装した皮の Ts を示すが（張力および伸長度の変化については後述する)，これによると明らかに石灰処理が鞣革の Ts 上昇に効果のあることが認められる．これは従来一般に推論されているように石灰漬が夾雑タンパク質を除去し皮のコラーゲンを構成するポリペプチドの束を膨化，露出せしめクロームとの反応を行われ易

Table 18. Effect of liming on the physical properties of chrome tanned blue shark ledther.

Days of liming		0	1	3	5	7	10	14
Ts	(°C.)	58	78	84	84	84	84	84
Strength	(kg./cm².)	10.22	12.12	13.40	15.80	15.92	14.52	9.10
Elongation	(%)	38.9	44.3	48.0	45.9	45.9	42.6	38.2

The pH of the chrome tanning liqure was 2.8 - 3.4.

くしたためであると思われる．

V．小　　括

鞣製上生皮に対する石灰漬の影響を知ることが重要であろうと考え，魚皮主としてサメ皮と牛皮の場合について比較対照した．

I 窒素成分の溶出について

(a) 石灰漬中に皮から溶出する窒素量は，石灰液が飽和液であるとほとんど一定であり，液量とは関係なく処理経過日数にしたがって増加した．

(b) サメ皮および牛皮から溶出した窒素成分の一部はアンモニアとして石灰液中に存在した．またアンモニアおよびアミノ態窒素の溶出量はサメ皮では牛皮の約2倍であった．

(c) 石灰皮中のアンモニアおよびアミド態窒素量，ならびにジアミノ窒素量は僅かではあるが減少し，一方モノアミノ態窒素量は増加の傾向を示した．

(d) サメ皮中のジアミノ態窒素残存量は牛皮より僅かに多かった．

II 溶出するアミノ酸について．

(a) 石灰液中には大部分のアミノ酸が検出され，分布は石灰液量にはほとんど関係しなかった．

(b) グリシン，アスパラギン酸およびアラニンは石灰漬の初期から顕著に現われ，これらが皮から遊離し易いことを示している．石灰漬処理日数がある程度経過すると，コラーゲン特有のオキシプロリンも検出されるようになり，皮コラーゲンが分解し始めている事を示した．

(c) プロリンおよびオキシプロリンは石灰液の加水分解物中に，サメ皮の場合には7～10日目に検出されたが一方牛皮の場合には17日目に不明瞭ながら検出された．すなわち牛皮に比しサメ皮のコラーゲンは犯され易い．

(d) 溶出アミノ酸の分布はサメ皮も牛皮も同様であるが全体的にみて，アミノ酸は牛皮からよりもサメ皮から短時日後に溶出した．

(e) サメ皮の好適石灰漬日数は放置温度約23°Cにおいて7～10日間であった．

III オキシプロリンおよびアルギニンの溶出ならびに皮革の熱収縮温度について．

(a) 石灰漬中のサメ皮のオキシプロリンおよびアルギニン含量ならびに石灰液中への溶出量の測定結果から前項ペーパー・クロマトグラフィによった結果が確認された．石灰液処理中のサメ皮のオキシプロリン量は7日を経ると急激に減少しアルギニン量も減少した．

(b) オキシプロリンは皮コラーゲンが分解するまでは，皮中に存在しており，石灰液中へはほとんど溶出しなかった．

(c) オキシプロリン量が熱収縮温度（Ts）に関係が深しと推論される通り，コラーゲンが分解しない間は Ts は変化しなかった．

(d) 石灰漬が Ts におよぼす効果について，生皮を石灰漬した皮，脱灰した皮およびクローム鞣革についての Ts を測定した結果，石灰漬した皮の Ts は生皮より低下した．一方鞣製革の Ts は，生皮，石灰皮よりも約30°C高かった．

(e) 石灰漬の効果は夾雑タンパク質の除去および皮コラーゲンを構成するポリペプチドの束の膨化および露出にあると推定した．

未　　完　　To be continued

ゴマサバの体温と釣獲層の関係について

田ノ上　豊　隆

On the relation between body-temperature of mackerel "Gomasaba" and its fishing-depth

Toyotaka TANOUE

Abstract

On the relation between the body-temperature of mackerels, *Pneumatophorus tapeinocephalus* (BLEEKER) angled by a long-line and its fishing-depth, the following results are obtained.

The body-temperature of mackerels measured immediately after angled by a long-line is 1.3—2.4°C lower than the surface water temperature.

It is found that the temperature change of the fish body in a water tank on board does not exceed 0.5°C in two minutes.

Accordingly, it seems to be concluded that the body temperature of an angled fish can be used as a sort of indication of its fishing depth.

緒　　言

魚体温については，熱電対や温度計を用いて測定（宇田[1], 1940），（川本[2], 1960）した多くの例があるが，游泳している状態の魚体温やその変化について，漁撈学的見地から調査検討されたものは殆んどないようである．

筆者は延縄で釣獲されたゴマサバの活魚の体温を測って，表層水温に比較してかなり低温である事を知った．そこで，活魚を船上の水槽内に入れて，魚体温が環境水温に順応するまでの変化を調べ，且つ魚探記録と釣鉤の深度から釣獲水層を求め，釣り揚げられるまでの魚体温の変化を推定した．これらの結果から，魚体温は釣獲層の推定，特に揚縄時の餌付きの判断に役立つものと考えられるので報告する．

調 査 方 法

1958年5月と6月に，種子島北部（a漁場），佐多岬沖（b漁場），佐多岬西側（c漁場）の各漁場で，本学部の実習船しろやま（18トン，60H.P.）によって，延縄で釣獲されたゴマサバの活魚の肛門から棒状寒暖計（1/10目盛，検定付）を体内に押し入れて魚体温を測った．

又船の甲板上の水槽（L×B×D：80cm×60cm×45cm）にドンキホースで，絶えず海水を注入して，この中に体温を測った元気の良い活魚を入れて，2分毎に体温を測った．

漁獲に用いた延縄の構造はTable 1に示す通りである．一回の操業には，10鉢を使用し，a，b，cの各漁場では浮標縄を夫々53，68，30mとした．

Table 1 Construction of a basket of long-line gear

main line		branch line		hook		float (bonden)		float line	
material	length	material	length	length	number	pole	float	material	length
cotton 20′S, no.20	243m	cotton 20′S, no.4	1.5m	4.8cm	80	banboo dia. −4cm 3m	glass dia. 33cm	cotton 7monme	60m

投縄終了後は30分位縄待ちしてから揚縄を開始し，平均50分位で揚縄を終了した．
水温は操業終了後各漁場で測定した．
漁場位置は Fig. 1 に示す通りである．

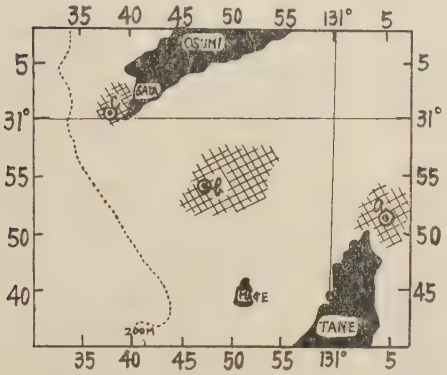


Fig. 1 Fishing-ghounds and the station of observation.
▩ : Fishing-ground
⊙ : Station

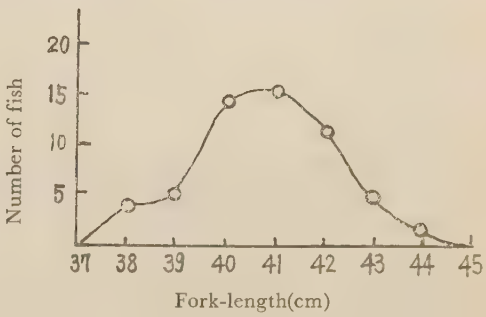


Fig. 2 Fork-length distribution of mackerel employed in this experiment.

調 査 結 果

本実験に用いたゴマサバの体長は Fig. 2 に示す如く，38～44cm の大型で，40～42cm が大部分を占めた．

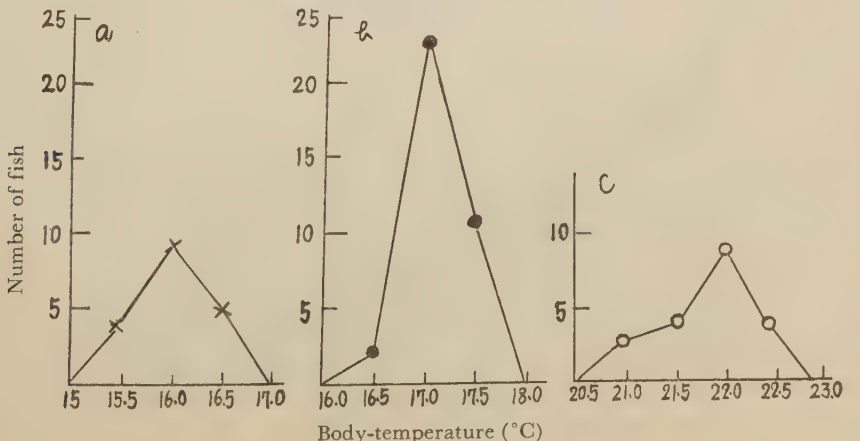


Fig. 3 The body-temperature distribution of mackerel at the three fishing-grounds, a, b, c.

活魚の体温：活魚の体温を測った結果は，Fig. 3に掲げる如く，体温範囲は水温範囲に較べて狭く，シャープな正規分布型を示している．表層水温と各漁場の魚体温範囲を比較すると，a，b，c漁場では体温が夫々0.9～2.6°C，0.7～2.0°C，0.6～2.1°C低くなっている．又各漁場の魚体温の平均値は16.4°C，17.4°C，22.1°Cで表層水温（夫々18.3，18.8～19.2，23.4°C）と較べると夫々1.9°C，1.6°C，1.3°C程度低い事が判る．

魚体温の変化：魚体温を測定した後，元気の良い魚体を船上の水槽に入れて，2分おきに体温を測った結果は Table 2 に示す通りである．すなわち，水温19°C程度の水槽内で游泳

Table 2 Change in the body-temperature in the water tank, May 13, 14 and June 5, 1958.

No.	water-temp.(C°)	Body-temperature (C°)								
		0	2min.	4min.	6min.	8min.	10min.	12min.	14min.	16min.
1	18.8	18.0	—	18.4	18.6	18.7	—	18.9	—	—
2	19.1	17.9	—	18.4	18.5	18.8	18.9	19.0	—	—
3	19.0	17.2	—	—	18.5	—	18.8	19.0	—	—
4	19.1	17.5	17.9	18.3	—	18.9	19.0	19.1	—	—
5	19.1	17.4	18.1	18.4	18.6	—	18.9	—	—	—
6	19.1	17.8	18.3	18.7	—	19.0				
7	19.0	17.3	17.4	17.8	18.2	18.5	18.8	—	18.9	—
8	19.1	17.4	18.0	—	18.6	—	18.9	18.9	—	—
9	19.1	16.8	17.5	17.6	17.9	18.1	18.3	18.4	—	18.6
10	19.2	17.4	17.9	—	18.4	18.7	19.0	19.0	19.1	—
11	19.2	16.8	17.0	18.5	18.7	—	19.0	19.2	—	—
12	19.2	17.4	17.8	18.5	18.9	19.0	—	19.2	—	—
13	19.0	17.2	17.4	17.8	18.0	18.4	18.8	19.0	—	—
14	23.3	21.3	—	22.2	—	—	—	—	22.3	—
15	23.0	21.6	22.0	22.3	22.5	22.6	—	22.8	22.9	22.9
16	19.2	17.9	18.1	18.2	18.4	19.0	—	—	—	—
17	19.0	17.3	17.8	—	18.4	—	18.8	18.8	18.9	19.1
18	19.2	17.6	—	17.6	—	—	18.2	—	18.6	—
19	18.8	17.2	18.2	18.5	18.7	—	18.8	—	—	—
20	19.0	17.4	17.5	17.8	—	18.2	18.4	—	—	—

している魚体の体温は，10数分後には大部分が環境水温とほぼ同程度に達するが，最高体温でも水温より僅か0.1°C位高く，多数の魚体では，水温と同温か僅かに低い値を示している．

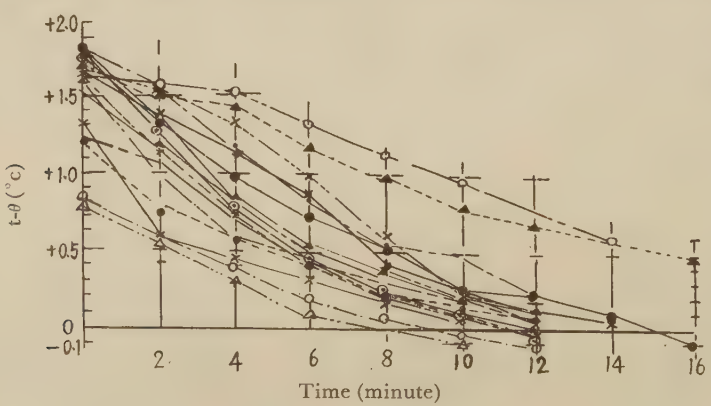


Fig. 4 Change in t-θ(°c) in the water-tank.
t : Water-temperature in the water-tank
θ : Body-temperature in the water-tank

尚 Fig. 4 に魚体温（θ°C）と環境水温（t°C）の差と経過時間との関係を示した．Fig. 4 で明らかな通り，一般的に体温変化は水槽に入れた直後に大きく，時間の経過と共に漸減する傾向が認められる．その割合は，比較的個体数の多い t-θ°C が1.6～1.8°C の場合を例にとってみると，前半の 6 分間で1.2°C，後半で0.5°C位の変化を示し，その割合は大体 2：1となっている．

水温の垂直分布と釣獲水深：漁場別の水温の垂直分布は Fig. 5 に示す如く，a 漁場では表層が18.5°C台で10m層までの水温傾度は極めて小さいが，25m層附近では傾度が稍大きく，17°C台に低下し，以深では再び漸減し，底層近くで15.5°Cとなっている．

b 漁場では，表層から10m層までは19°C台で水温の変化は殆んどみられず，25m層で18.5°Cに低下し，以深の水温は漸減して75mで17°C台となり，100m層では15.7°Cの低温となっている．

c 漁場では表層から10m層までは 23°C 台の高温水塊で覆われているが，25m 層になると21°C台に低下し，明らかに水温躍層が認められる．それ以深では水温傾度は極めて小さく，60m層で20.8°C台を示している．

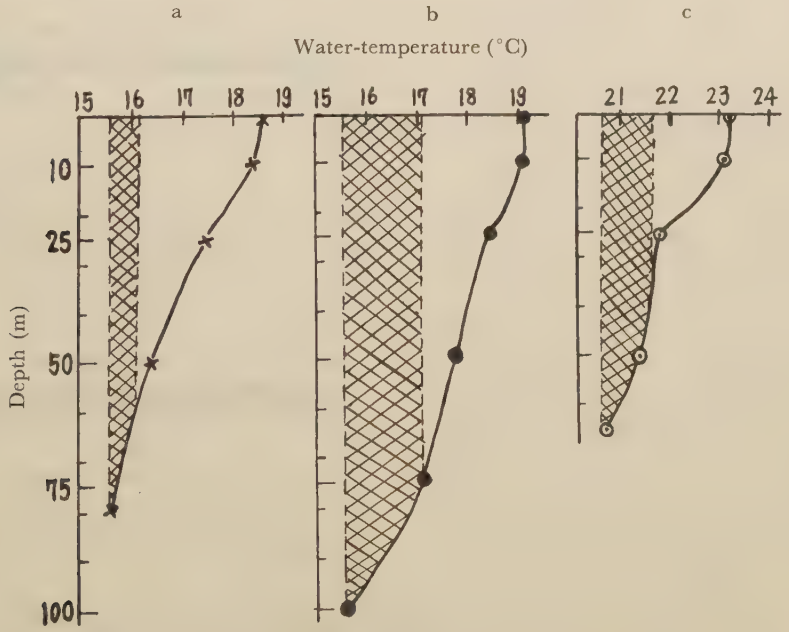


Fig. 5　Vertical distribution of the water-temperature and the fishing-water-temperature at the three fishing-grounds, a, b, c.
▩ : the range of fishing-water-temperature.

次に前記の延縄の構造に基づき，投縄時の短縮率 K＝0.8として カテナリー の計算式[3]（吉原, 1953）から各釣鉤の深度を求めると次の通りとなる．

a 漁場では

1番目の鉤の深度：2.5m（A_1）＋53m（浮標縄）＋1.5m（枝縄）＝57m

20　〃　〃　：33.4m（A_{20}）＋53m（〃）＋1.5m（〃）＝87.9m

40 〃 〃 ：64.4m（A_{40}）+53m（〃）+1.5m（〃）=118.9m

b漁場では，同様の方法で1，20，40番目の鉤は夫々71.5m，102.4m，133.4mとなる．

c漁場では夫々34m，64.9m，95.9mとなる．

a，b，cの漁場の水深は大体80～100m，100～120m，50～70m程度であるので，最深部の鉤は底層に着いていることとなる．実際操業中に中央部附近の釣鉤には海藻や石が掛って揚がって来る事が多いので，鉤が底層に到達する事は間違いない．

従って，最浅部の鉤より以深の層から魚が釣り揚げられるものと考えると，釣獲の水温範囲はFig. 4に示した如く，a，b，c漁場では夫々15.5～16.1°C，15.7～17.1°C，20.8～21.7°Cとなる．

尚c漁場における魚探記録中，延縄で釣獲して，ゴマサバと確認された群はFig. 6に示した通り，40～50m層に認められた．

論　　議

前述の結果から，種子島北部漁場（a）では，ゴマサバは57m層以深の水温15.5～16.2°C位の範囲から釣獲され，大体2分位で船上に釣り上げられることになる．この場合，表面水温は18.3°Cで魚体温範囲は15.7～17.4°C，その平均値は16.4°Cとなり，表層水温に較べて0.9～2.6°C，平均1.9°C低い．

佐多岬沖漁場（b）では，71m以深の水温15.7～17.1°Cの範囲から，前とほぼ同時間で船上に引き上げられ，魚体温は表層水温に比較して，0.7～2.0°C低く，平均1.6°Cの差が認められた．佐多岬西側漁場（c）は水深が浅いため，魚群の棲息層も比較的浅く，魚探記録で明らかな如く，40～50m層にみられた．この漁場ではゴマサバは30m層以深の20.8～21.7°Cの水温帯から釣獲されて，表層水温に較べて0.6～2.1°C低く，平均値で1.3°C低温となっていた．

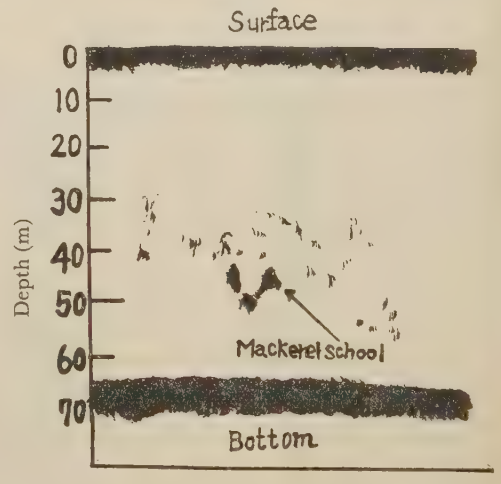


Fig. 6 The mackerel-school recorded on the Fish-finder tape in the fishing-ground c, June 5, 1958.

ゴマサバの成魚の体温が，棲息層の環境水温とどの程度異っているかは充分明らかでないが水槽内で測った結果では，−0.2～+0.1°C位の範囲にあり，水温と同程度の魚体数が比較的多かった．水槽が小さくて充分游泳できなく，釣獲という特殊刺戟が加えられており，餌料を摂っていない事等から，上記の体温は普通の状態のそれを現わすものではないかも知れない．しかし一般に魚類のような変温動物は恒温動物と違って，環境水の水温に従って体温は上下し，その水温と同等または幾分高い[2]と認められている．従って，ゴマサバの場合でも体温は環境水温と同じか+0.1°C位高いものと考えるのが妥当であろう．

次に体温の変化は，環境温度にしたがって新陳代謝が上下しているため，環境温度に近くなり，体温の喪失は環境への熱の伝導によることが多[2]いことも知られている．外囲の水温

が高い時には逆に熱は体内に伝導することも考えられるが，その伝導率は低く，生体の熱伝導の状況が明らかでないので，ここでは実験結果を用いることとする．

Fig. 4 で経時的な温度変化をみると，最初の変温量が大きく，後に漸減しており，その量は2分間で0.1～0.5°C位の範囲である．

この体温変化から類推すると，釣獲層から船上に釣り上げられるまでに最高0.5°C位の体温上昇があったこととなる．

今各漁場から釣獲された魚体温が0.5°Cの体温上昇があったものと見做すと，a 漁場では体温範囲が15.2～16.9°Cとなって，水温15.5～16.2°C の範囲よりも稍低い体温と 0.7°C 程度高い結果が生ずる．この場合では魚体温が環境水よりも0.3°Cも低い事は考えられないので，魚体が必ずしも揃って0.5°C昇温するものでないこと，後者の場合は揚縄が開始された後に45m層附近で鉤に掛ったものではないかという予想も成り立つ．

又 b 漁場の場合は体温範囲が16.3～17.6°Cとなり，水温15.7～17.1°Cの範囲に較べると，0.5°C高い体温がみられる．水温の垂直分布から判断すると魚体は深さ60m位から釣獲されたこととなる．

c 漁場では体温範囲が20.8～22.3°Cとなり，水温範囲が20.8～21.7°C であるので，前二者と同様に体温が0.6°C高く，ここでは20m層附近で鉤に掛った魚があることとなる．

魚群の游泳層については確定的資料はないが，5月，6月の頃は魚群が一般的に浮上する頃であり，浮標綱を45m位に短縮して投縄する事もあるので，a，b 漁場の釣獲層は妥当なものと判断される．

c 漁場の場合20m層附近を魚群が常時遊泳しているかは疑問であるが，水深のやや浅い馬る群毛島南方では浮標綱を22m位にして漁がある場合もあり，このような浅層に浮上していがいることは確認されている．

以上の要点は次の通りである．延縄によって，深い層から釣獲したゴマサバの成魚の体温は表層水温に較べてかなり低く，釣り上げられるまでに魚体温の変化する量は少い．これを船上の水槽で実験的に求めた結果2分間で0.1～0.5°Cの変温値を得た．今全ての魚体で0.5°Cの体温上昇があったものと見做して，水温の垂直分布から釣獲層を推定すると，大部分の魚体が計算上の釣鉤の深度，魚探記録に現われた游泳層に合致する．しかし一部の魚体では体温が水温よりも低い結果が出るが，この場合は0.3°C 位の昇温にとどまったものとみると水温範囲内に含まれ，魚体温が水温範囲よりも高いものでは揚縄の途中で鉤に拘ったものと解釈すると，その予想される層は魚群の游泳層の範囲内にとどまる．従って，釣りあげた魚の体温を測って大体の釣獲層を知ることが可能であると推論した．

本実験を行うに当っては，実習船「しろやま」の船長高橋琴一氏をはじめ乗組員諸士の援助を受け，蔵田耕三君には実験の一部を担当していただいた．茲に記して謝意を表する．

文　献

1)　宇田道隆：1940　カツオとサンマの魚体温と形状に関する測定，日水誌 9 巻 6 号．
2)　川本信之：1960　魚類生理生態学．
3)　吉原友吉：1953　マグロ延縄の縄成りについて，日水誌16巻 8 号，19巻10号

大型回流水槽に依る 1000屯型漁船の船型試験結果に就いて

奈良迫嘉一

Experiments Performed in a Large Circulating Tank on a Model of a Fishing Vessel of Gross Tonnage about 1000 tons

Yoshikazu NARASAKO

Abstract

Experiments on a model ship have not so frequently performed in a circulating tank, because of an unreasonable belief that the results so obtained are dubious in the reliability.

The experimental evidence presented in this and previous paper (1958a,b) indicates that a circulating tank is not inferior to a towing tank when adequate corrections are applied. When the ship speed is as low as less than 12 knots, that is, in the case of the predominance of frictional resistance, the total resistance give a larger value than obtainable in a towing tank, working on a model of a large fishing vessel. This fact is due to an increase of frictional resistance in the turbulent flow.

The modifications of the correction value for a towing tank test ($\Delta Cf = 0.0004$ or $\varepsilon = 1.19$), which should be applied for a circulating tank, are shown in Fig. 3. When the ship speed is over 12 knots, i. e. in case of the predominance of wave-making resistance, numerical value of the total resistance, and consequently D. H. P., approaches to that of the actual ship. Comparing these results with those of a small vessel presented in the previous paper, the influence of the electrically welded structure of the hull of the large vessel can be seen at low ship speed.

1. 緒　　言

本学漁業練習船かごしま丸（総屯数1038 t）新造を期とし，Lpp 1m 模型に依る船型試験を実施，海上試運転成積との比較に依り，回流水槽性能の有用性を検討した．同種試験は著者（1955，1958b）に依り既に敬天丸（総屯数265t）Lpp 1m，1.5m模型を用い実施されているが，この種試験は本邦でもその例が少なくその信頼度の確認には更に今後各種の比較試験を行うことが必要と感ぜられる．本論文はその目的の一つとして書かれたものである．

2. かごしま丸主要項目

重要寸法		速力等	
全長	66.05m	過負荷（試運転時）	15.512kts
長さ（漁船法）	60.50m	連続最大出力（〃）	14.811kts
長さ（垂線間）	59.60m	航海速力	約 12.50kts
幅（型）	10.80m	航海日数	〃 44 日

重要寸法

深さ（型）	5.39m
計画満載吃水	4.30m

速力等

航続距離	〃 13200浬
燃料消費量	〃 7.0t/day

屯数，資格等

総屯数	1038.14t
純屯数	322.71t
甲板下積量	2201.160m³
資格	第三種漁船
船級	NK, NS*, MNS*
船舶番号	85926
信号符字	JABM
船籍港	鹿児島

搭載能力

燃料油艙	349.17m³
潤滑油艙	14.95m³
清水艙	226.46m³
脚荷水艙	30.21m³
魚艙	30.38m³
空気凍結室	10.25m³
準備室	26.16m³
糧食冷蔵庫	16.09m³
諸倉庫	200.35m³

主機械

阪神T6TS型竪単動4サイクル
自己逆転過給機付ディーゼル
機関 1700p.s.×245r.p.m. 1基

推進器

エロフォイル断面4翼1体式

直径 2700mm	ピッチ 1893.8mm
ピッチ比 0.7014	全円面積 5.7256m²
展開面積 2.7029m²	投影面積 2.4860m²
展開面積比 0.4721	

主発電機

日立，ヤンマー，自励複巻防滴型
A.C.450V， 200KVA 3台

乗組員

総数	95
船舶職員	15
教官	5
一般船員	27
学生	48

工程

起工	昭和35年1月16日
進水	7月11日
公試	9月7；9日
竣工	9月15日

造船所

日立造船株式会社向島工場

船価

3億4999万9000円

3. 実船試験（速力試験）

期日	昭和35年9月9日
場所	愛媛県弓削島標柱
天候	晴
海面	小波僅少

吃水 前部	1.88m
中央部	3.01m
後部	4.01m
平均	2.95m
トリム	2.13m
排水量	1055t
浸水面積	642m²

速 力 試 験 結 果

試験程度		最低速	¼	½	常 用	連続最大	過負荷	
標柱間距離			1852.5	1852.5	1852.5	1852.5	1852.5	m
試験開始時刻	往		8.39	9.24	10.01	10.37	12.45	h-m
	復		9.04	9.45	10.20	10.55	13.03	
標柱間航走時間	往		5. 58.7	5. 01.4	4. 28.0	4. 15.5	4. 00.1	m-s
	復		5. 29.5	5. 30.6	4. 03.5	3. 51.9	3. 44.7	
速力	往		10.039	11.947	13.436	14.093	14.998	knot
	復		10.929	13.307	14.788	15.528	16.025	
	平均	4.59	10.484	12.627	14.112	14.811	15.512	
主機回転数	往		159.5	199.8	238.3	252.8	268.5	m^{-1}
	復		158.5	199.9	239.4	253.2	268.5	
	平均	72.1	159.0	199.9	238.9	253.0	268.5	
正味馬力 (B.H.P.)	往		406	844	1439	1736	2114	p.s.
	復		370	797	1397	1741	2097	
	平均	63.7	388	821	1418	1739	2106	
風力	往		4	3	2	2	3	$m.sec^{-1}$
	復		4	3	2	2	3	
風向	往		↘	→	→	→	→	
	復		↘	→	→	→	→	
潮流	往		0.2	0.5	0.7	0.7	0.2	knot
	復		0.2	0.5	0.7	0.7	0.2	
潮流方向	往		→	→	→	→	→	
	復		→	→	→	→	→	
推進器見掛脚率		−3.77	−7.50	−2.99	+3.70	+4.58	+5.83	%
アドミラルティ係数 (D.H.P.)		163	318	263	212	200	190	

4. 模 型 試 験

使用模型は大阪府堺市有限会社笠井商会作成のもので Lpp 1m，附加物（舵，ビルヂキール）なし．材料は良質の檜製である．仕上り精度を検討の結果吃水面下に於て平均 0.5mm 程度の縮み量を発見したので，計算に依る排水量に合せて吃水調整を行なった．実船，模型船間の寸法を対比すれば次の通りである．

	実 船		模 型	
d_f	1.88m	2.38m (型)	39.9mm	(型)
d_a	4.01m	3.51m (型)	58.9mm	(型)
d_m	2.95m	2.95m (型)	49.5mm	(型)
τ	2.13m	1.13m (型)	18.9mm	(型)
Δ	1055t		4.860kg	

	実船	模型
S	642m²	0.1807m²
C_m	0.860	0.860
C_b	0.527	0.527
C_p	0.612	0.612
C_w	0.718	0.718

尚本船型の正面線図並に排水量等諸曲線を示せばFig. 1, 2の通りである.

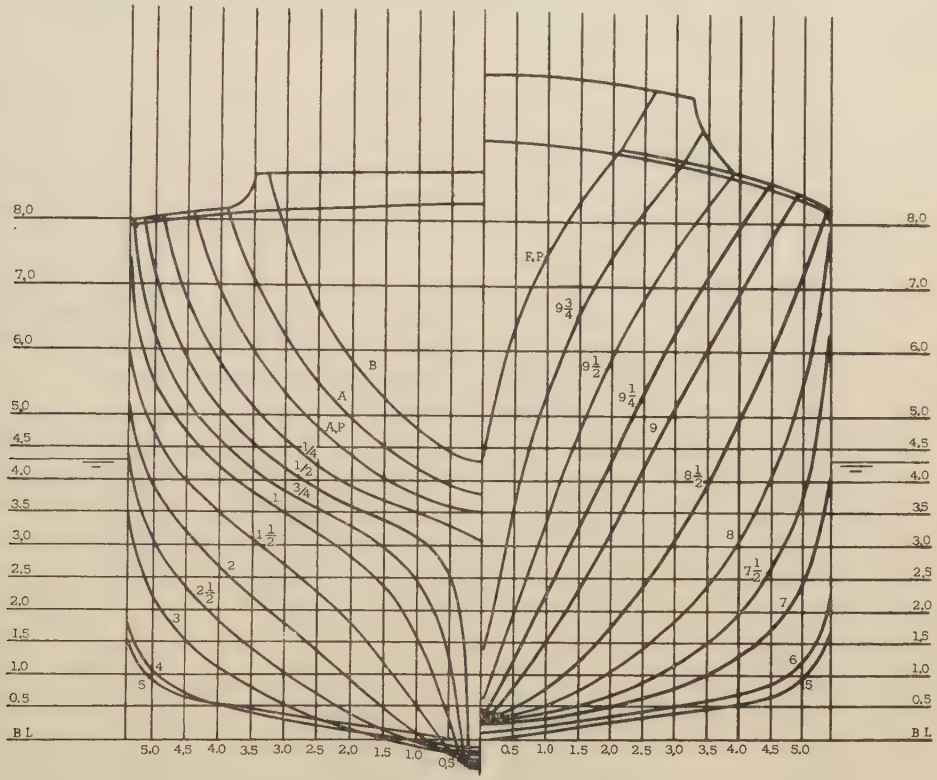


Fig. 1　Body Plan of the Kagoshima Maru

実験は緒言にも述べた通り本学回流水槽〔著者 (1956, 1958a)〕に於て行なった. 水深 60 cm, 最高流速0.872m/secである. 実験結果は通常の方法の如く模型の γ_t を γ_f と γ_r に別け, γ_f の計算には Schoenherr の式 $0.242/\sqrt{C_{ft°c}} = \mathrm{Log}_{10}\left(\frac{vl}{\nu} \times C_{ft°c}\right)$ を用い実船の roughness effect に対しては 0.0004を C_f に加算した場合と運研の抵抗修正係数 (L 60m→ε1.190) を用いた場合の二つに就いて計算した. 尚船体附加物に依る抵抗増加は1軸船であるため之等を含んだ排水容積ならびに浸水面積を使用することに依り裸船体状態の摩擦抵抗係数を以て処理した. 尚換算実船資料はすべて15°Cのものである. その結果をFig. 3 に示す.

5. 考　　察

Fig.3 に於て微速の資料は海上, 陸上共に流木試験に依る流速, 陸上試運転の η_m 曲線の類

推に依る値を使用し解析をすすめた．又伴流係数 w，推力減少係数 t は何れも運研チャートよりとりその平均としてw=0.2438，t=0.1463を用いた．η_pに就いても同様である．

即ち主機の各負荷に対する対地速度$V_k$knots, 推進器の毎分回転数N及び伝達馬力D.H.P.（実船に対しては測定指示馬力I.H.P.から主機の陸上試運転成績の η_m を参考として制動馬力B.H.P.を出し之から伝達効率を0.9678ととって計算したもの…普通型推力受1ヶ0.985，軸受3ヶ0.9975，船尾管1ヶ0.99，模型に対しては上述の値を利用し，η_h 1.129，η_r 1.02，η_p 運研チャートの値より算出する）の往復航走の平均の関係を横軸に V_k，縦軸に N 及び D.H.P. 更に η_m，η_p，η，A.C. を記した．

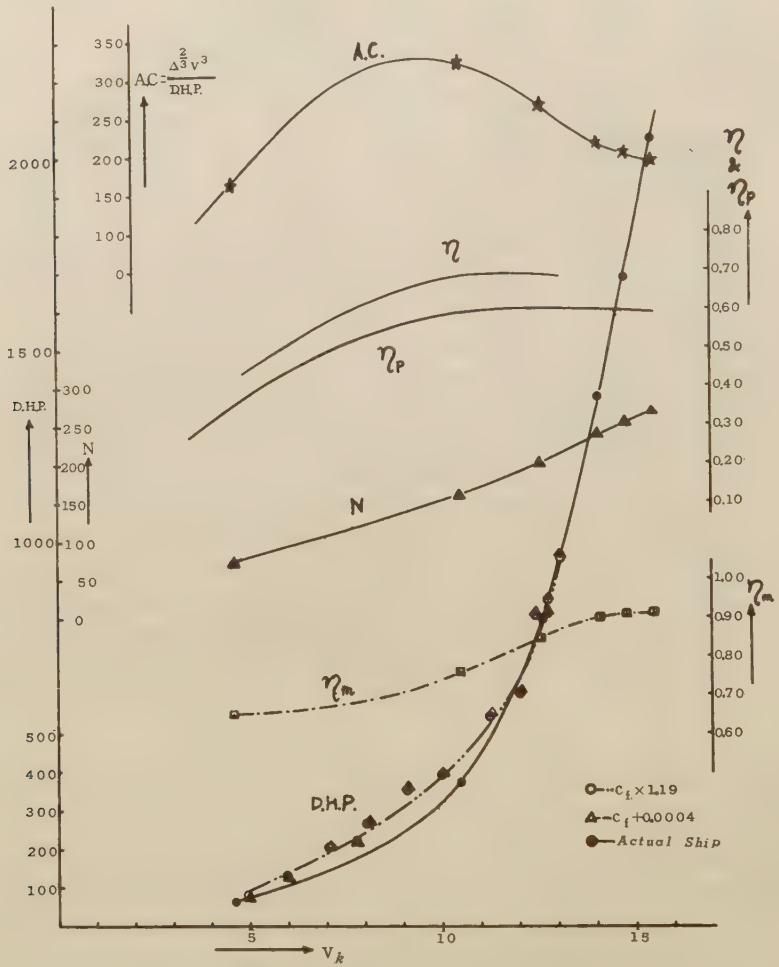
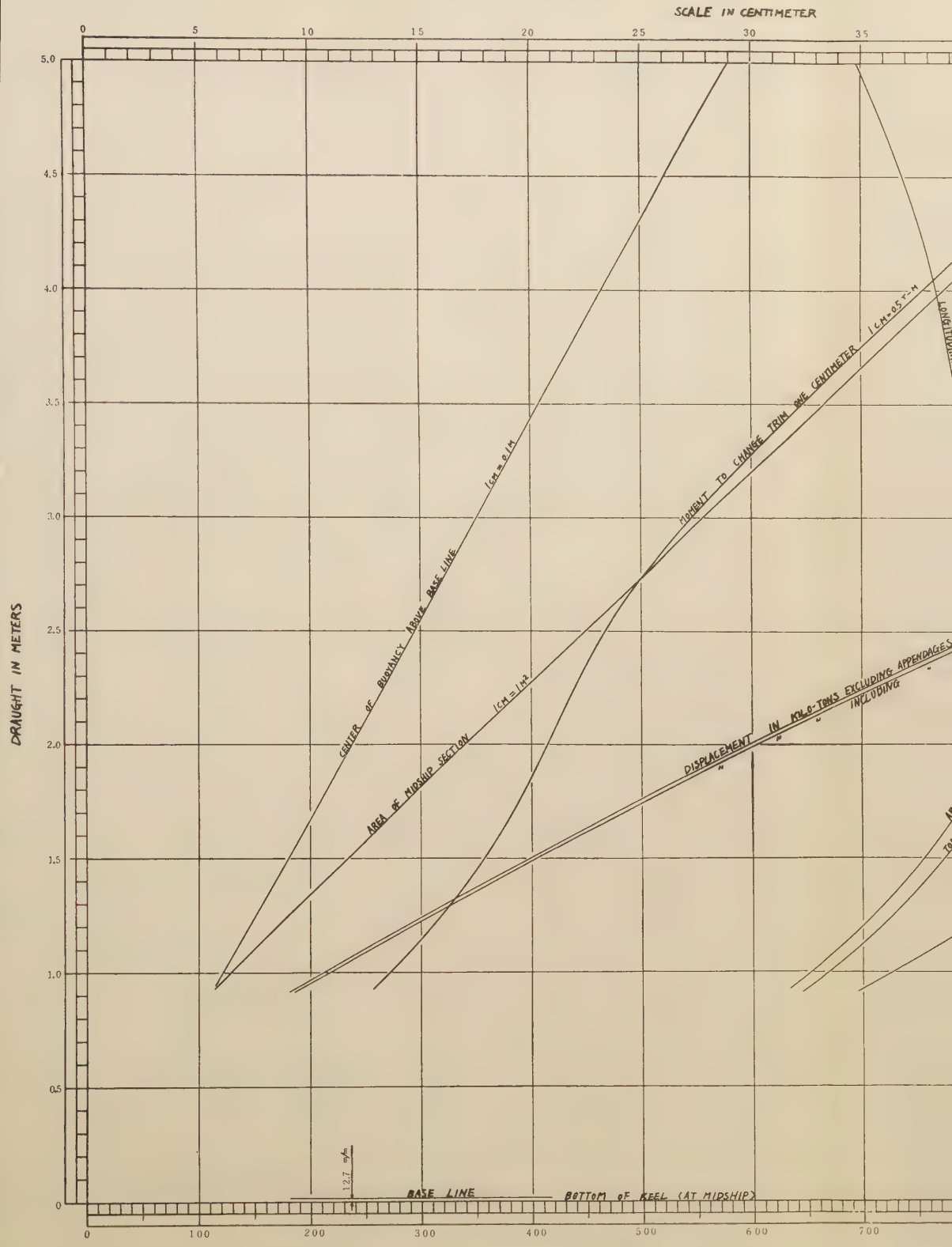


Fig. 3 Curves of D.H.P., N, η_m, η_p, η and A.C. for V_k

回流水槽の乱流効果からみて当然摩擦抵抗の増大を期待したが12knots 以下で実船資料との間にかなりの開きを見ている．之については先般の敬天丸の場合小型船に対する修正値として摩擦抵抗値に L34.6m→ℰ1.50の修正係数を乗じ実船資料への近似化を計ったがこの場合尚実船値より多少小さ目に出た．然るに L60mの本船の場合は運研の修正係数1.19で実船


SCALE IN CENTIMETER
0
5
10
15
20
25
30
35
5.0
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0
DRAUGHT IN METERS
CENTER OF BUOYANCY ABOVE BASE LINE 1CM = 0.1M
MOMENT TO CHANGE TRIM ONE CENTIMETER 1CM = 0.5 T-M
AREA OF MIDSHIP SECTION 1CM = 1M2
DISPLACEMENT IN KILO-TONS EXCLUDING APPENDAGES
" " " INCLUDING
12.7 m/m
BASE LINE
BOTTOM OF KEEL (AT MIDSHIP)
0
100
200
300
400
500
600
700

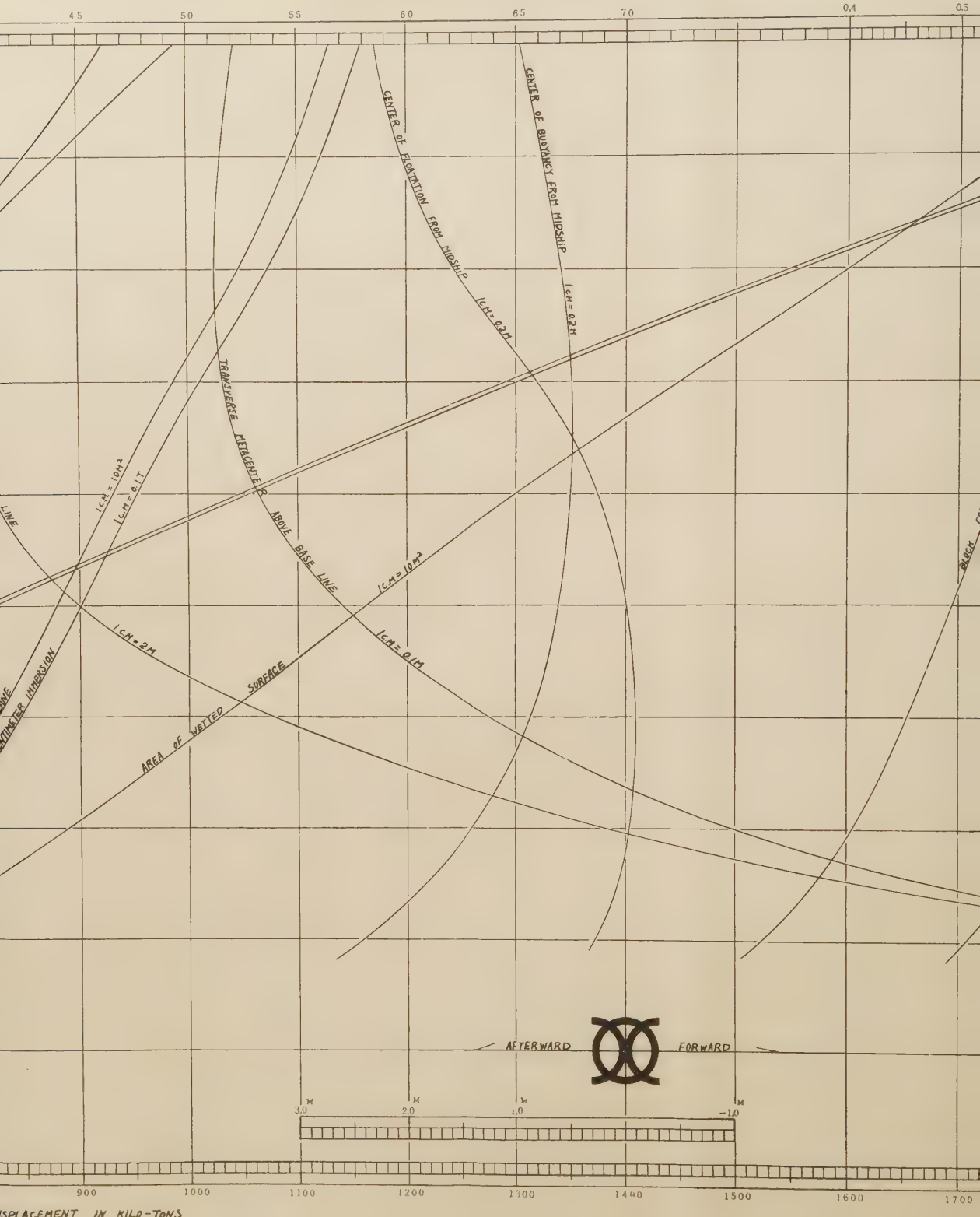
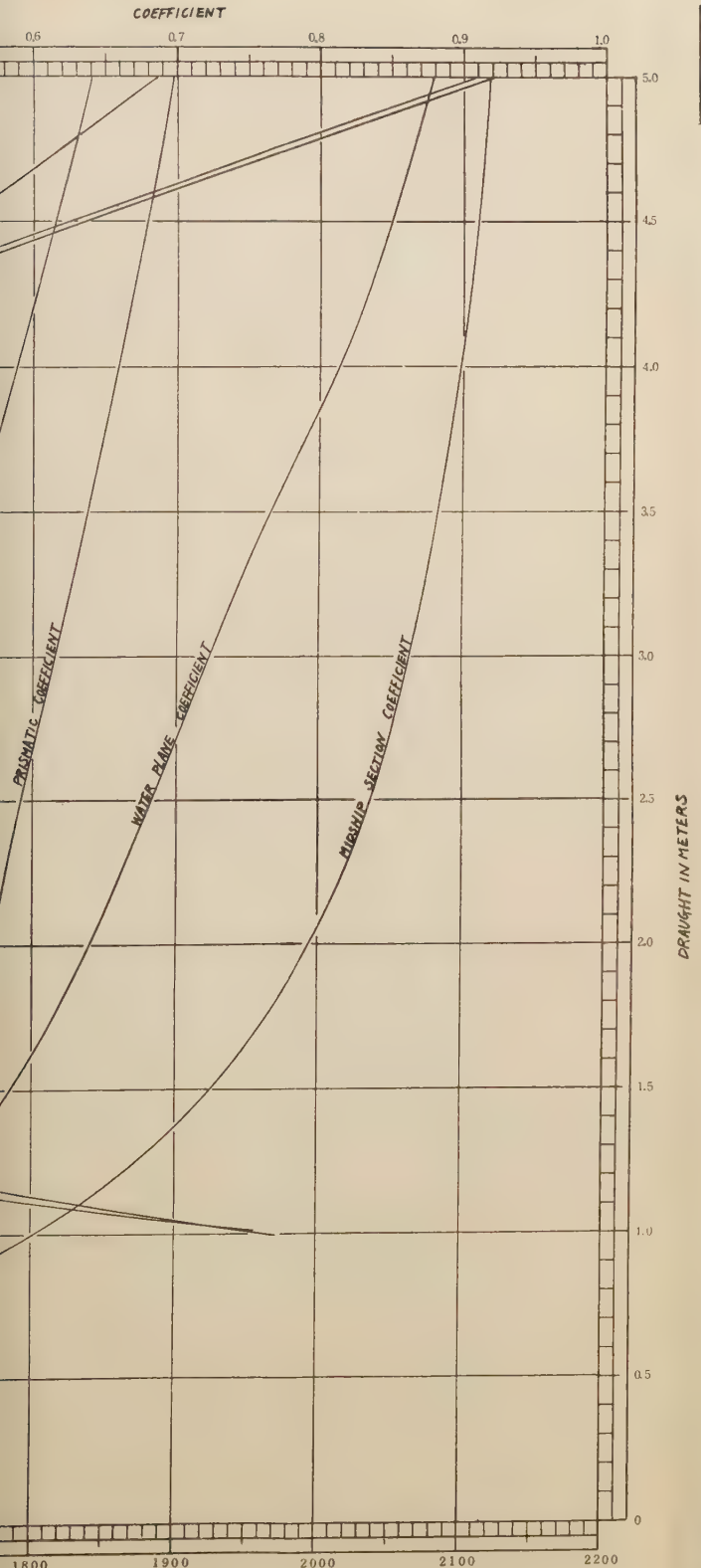


Fig. 2 Hydrostatic Curves of the Kagoshima Maru



図面来歴				
昭35.7.5.	使用番号	製造数	使用年月	注文主その他
現図寸法により計算の上作製				

DIMENSIONS

LENGTH (垂船法による)	60.500 M
LENGTH B.P.	59.600 M
BREADTH MLD	10.800 M
DEPTH MLD	5.400 M
DESIGNED LOAD DRAFT	4.300 M

NOTE:-
SPECIFIC GRAVITY OF SEA WATER 1.025

かごしま丸	鹿児島大学 1000噸型漁業練習船

排水量等測線

尺度

日立造船株式会社向島工場 工務部設計課	課長	係長	担当	製図	関係先
作図 昭和35年7月5日					

製造番号		整理番号	完6
コード番号	完成図	図面番号	100799

値よりかなり大き目に出ている．之は本船の熔接構造に基づくΔC_fの減少を考慮すべきであることを示唆している．又通常用いられる$\Delta C_f=0.0004$についても略同様であってその結果も殆んど前者と一致している．更に12knots以上では敬天丸の場合と同じく実船値に近づいて来ているが，水槽の性能の限界から最高速迄試験を行ない其の結果を確認し得ないのは遺憾である．前報に述べた如く固定翼水車を使用した本水槽では流の脈動化を防止出来ずそのため抵抗記録に最大6％の偏差を生じた．但し天秤感度は0.5gr．近い将来可能ならば翼車を羽打式にしたいと計画中である．

6. 結　　論

緒言にも述べた通り従来回流水槽に依る船型試験はその例が少なく，その与える結果に就てもかなり信頼度は薄いものとして取扱われて来ているが，今回吾々の得た実験の結果では小型漁船に関する前報と同じく必ずしも悲観的な値でなく将来益々この方面の研究開拓の重要性を示唆しているように考えられる．即ちFig. 3に見られるように大型漁船に於ても低速12 knots以下では乱流に依る摩擦抵抗の増加が見られ，通常の船型試験結果に比し，かなり抵抗値が大きく出る．従って実験値を実船値に近づけるためには通常の曳航水槽に対して用いられる$\Delta C_f=0.0004$又は$\varepsilon=1.19$では修正量がやや大に過ぎるので回流水槽に対しては或る量減じて処理すべきこと尚前報小型漁船と違って大型の場合は熔接構造に基づくΔC_fの減少を更に考慮せねばならないことを示している．次に造波抵抗の利く高速12knots以上では実船値に近づいてゆくのが明らかに認められるが水槽性能の限界から実験の完璧を期し得ないのは甚だ遺憾である．

文　　献

奈良迫嘉一 1955：鹿児島大学漁業練習船敬天丸の船型試験成績について
西部造船会会報　第10号
奈良迫嘉一 1956：大型対称式回流水槽について
鹿児島大学水産学部紀要　第5巻
奈良迫嘉一 1958 a：大型対称式回流水槽について（続）
鹿児島大学水産学部紀要　第6巻
奈良迫嘉一 1958 b：漁船模型に依る回流水槽と曳航水槽との抵抗試験結果の比較に就て
鹿児島大学水産学部紀要　第6巻

鹿児島におけるLoranによる時間差測定の結果について

源河朝之・田口一夫

Study on the Effects of Time-Difference measured by Loran at the Fixed Spot in Kagoshima

Tomoyuki Genka and Kazuo Taguchi

Abstract

The results of minute examinations taken at Kagoshima (Lat. 31°- 32′- 52″ N, Long. 130°- 33′- 35″ E) on the variations of sky-wave corection, using the Loran-wave carried out by the several Loran rates during the period from July 31st 1961 to August 5th 1961 are presented.

(1) The fluctuation of errors in the sky-wave corection may be sometimes Serious, though the differnce between the one obtained from Loran Table and that from the present observations does not seem to be serious. This may be attributed to the variations in ionosphere, meteorological and geographical conditions on way of transmission.

(2) Differences in the variation of the sky-wave corection between overland-wave and oversea-wave, are clearly found as far as we concern.

(3) Attention should be paid to the fact that the Fading and much fluctuated amplitude in Loran-wave image can be found in advance befor the image vanishes.

(4) Good ovservations on the ground wave are occassionaly got even at night, which may be considered to have unknown relationdhips with weather conditions.

(5) Under the passing typhoon, advanced Fading and additional errors of time-difference take place. The causes of these facts can be supposed to be irregular changes of temperature,pressure, and humidity of the air.

I. 緒　　言

電波航法計器が航海術の重要な役割を占めるに至った今日，航海者にとってその信頼度を確める事は極めて必要な事である．その計器の１つである Loran が総ての船舶に利用される様になり，優秀な Loran が次々に現われてその利用度は増々高まりつつあるが，主なる原因は(1)天測の様に天候および昼夜に左右されないで何時でも簡易に船位が求められる点，(2)軽量，小型でしかも比較的安価で装備できる点，(3)その精度が良好で，利用範囲が広域である点,等にある．しかしながら,ただ漫然とその時間差測定の値のみで船位を決定し得るものではなく，測定値についてその精度を十分に検討した上でなければ，信頼出来る船位を得る事はできない．一般に Loran の精度については次の事項が検討されなければならない[1]．

(1) 受信指示器の精度．

(2) 送信局の同期精度．

(3) 信号の判別とこれを重ね合わす精度．

(4) 送信局と船位との相対位置による精度.
(5) Loran chart, および Loran table の精度.
(6) Sky wave corection の精度.

以上の内で(6)以外のものは已に十分な検討がなされ，実験研究も積まれており，現在では大きな支障はないが，(6)についてはまだ検討されねばならない点が残されている.

Sky wave の伝播について考慮しなければならない点は，電離層の高さとその傾斜状態，電離層そのものの特性，その季節的変化，電波伝播の経路の気象要素(気圧，気温，湿度等)および陸地の中間存在と観測地から Loran station までの距離，太陽黒点変動の影響等[2][3]，甚だ複雑である．これらの事に関しては多くの研究発表があり，現在ではかなり解明されている．実用 Sky wave correctionは Loran table, および Loran chart に掲載されているが，幾分不安定な面もあると云われているので，筆者は Sky wave correction の変化の実体，およびそれに関聯する事柄について，以下に述べる実験を行い，断片的ではあるが，その精度を確かめたので，それについて述べ，且つ1昼夜の映像の写真を撮影したので掲載し参考に供する.

この実験は東京商船大学，北海道大学水産学部との共同観測によって行われたもので，その綜合研究の成果は別の機会に発表される予定である.

II. 観測の方法および実施

昭和36年7月31日正午より8月5日正午に至る5昼夜間，1時間毎に *鹿児島における，各 Loran station からの Ground wave および Sky wave の到達時間差を測定した．使用 Loran はK.S.-335 (光電製作所) と J.N.A.-102 (日本無線株式会社, Transistor 式) で，完全調整して用いた．両者による測定値には，問題にされるほどの相違はなかったので，今回の資料は K.S.-335 によることにした．観測場所は鉄筋三階の研究室で実施し，Antenna は Fig. 1. に示した様に，高さ約 10m (地上から Antenna 頂点までは約22m) で若干傾斜させ，絶縁，および接地は十分に施した．選定した Loran station は，2H0より 2H6までの7局と2S1, 2S2の2局，計9局である．各局に対する参考要目を Table 1. に示した．観測方法は，J.S.T.の定時から2H0より順次観測し，所要時間は約15分を要した．特に不安定な Sky wave については，その安定時を慎重に見定めて測定した．尚，2H3, 2H4について，8月4日午前9時より1昼夜の間，1時間毎に Sweep 別に映像を撮影した．Film は Sakura X-ray を使用し，観測に最適の状態にするため Receiver gain control, および Amplitude balance control を適当に調定し，主にその状態で撮影した.

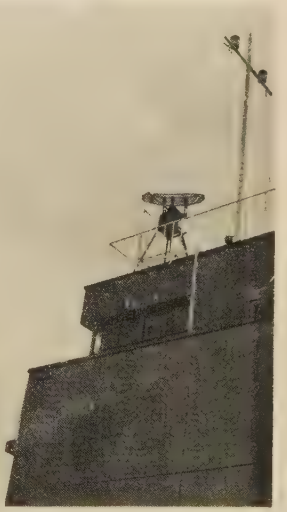


Fig. 1. Stretching-out of Loran antenna.

* 鹿児島大学水産学部 (Lat. 31°-33′-52″ N, Long. 130°-33′-35″ E)

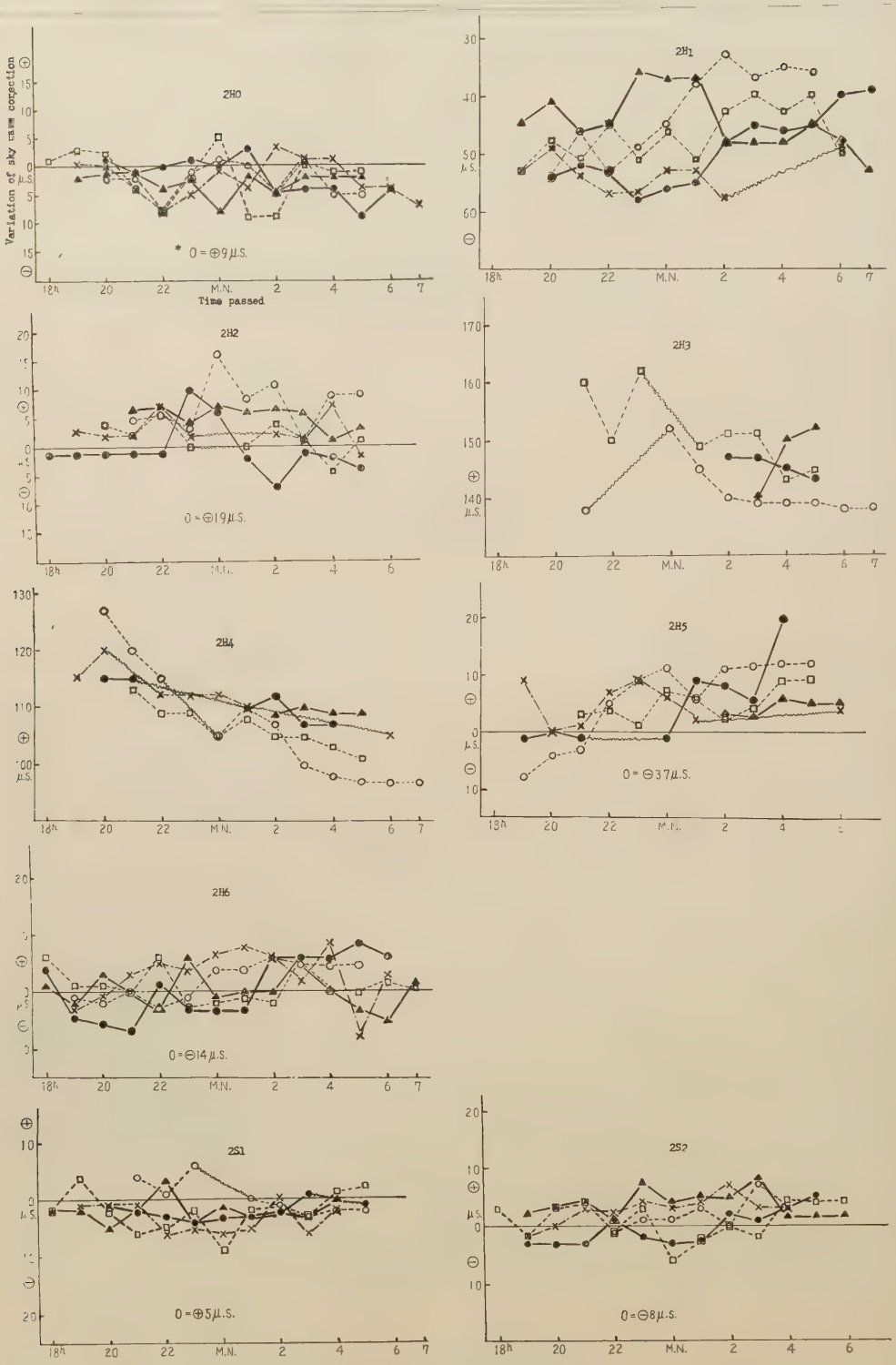


Fig. 2. Variation of Sky wave correction to the respective Loran station.
···○··· On the 1st day —●— On the 2nd day --×--On the 3rd day ···□··· On the 4th day
—▲— On the 5th day ~~~~~ Supposed line

Table 1. Epitomize to Loran ground stations.

Loran rates	Distinction between the two stations and its approximate distance (mile)				Time difference of ground wave by Loran Table (μs.)	Sky-wave carrection by Loran Table (μs.)	A difference of position line by 1 μs. measured by Loran Table	Remark
	Master station		Slave station					
2H0	Niigata	560	Matsumae	737	3472	+ 9	0. 9	Overland wave
2H1	Niigata	560	Yonago	274	1110	*	0. 6	〃
2H2	Fusan	224	Yonago	274	2551	−19	0. 19	〃
2H3	Nomaike	22	Fusan	224	3657	*	0. 12	Oversea wave
2H4	Nomaike	22	Okinawa	338	4915	*	0. 18	〃
2H5	Iōjima	706	Okinawa	338	2772	−38	0. 12	〃
2H6	Iōjima	706	Ōshima	480	2877	−14	0. 17	〃
2S1	Ōkamasaki	720	Ochiishi	980	4334	− 5	1. 7	Overland -wve
2S2	Ōkamasaki	720	Namisaki	570	1393	− 8	0. 52	〃

* The use of sky waves is prohibited.

観測中7月31日より8月2日にかけて，颱風 (No. 10) の通過があり，その前後にも，かなりのFading があって，1時観測不能の状態 に陥った.

III. 観測結果並びにその考察

観測は概ね順調に終了し，測定時間差の資料を Table 2. に示した. Fig. 2. は鹿児島における，各局の Ground-waveの到達時間差を Loran table から求めた値(Table 1. 参照)と観測によって求めた Sky-wave の時間差との差，即ち，実測の Sky-wave correction を求め，

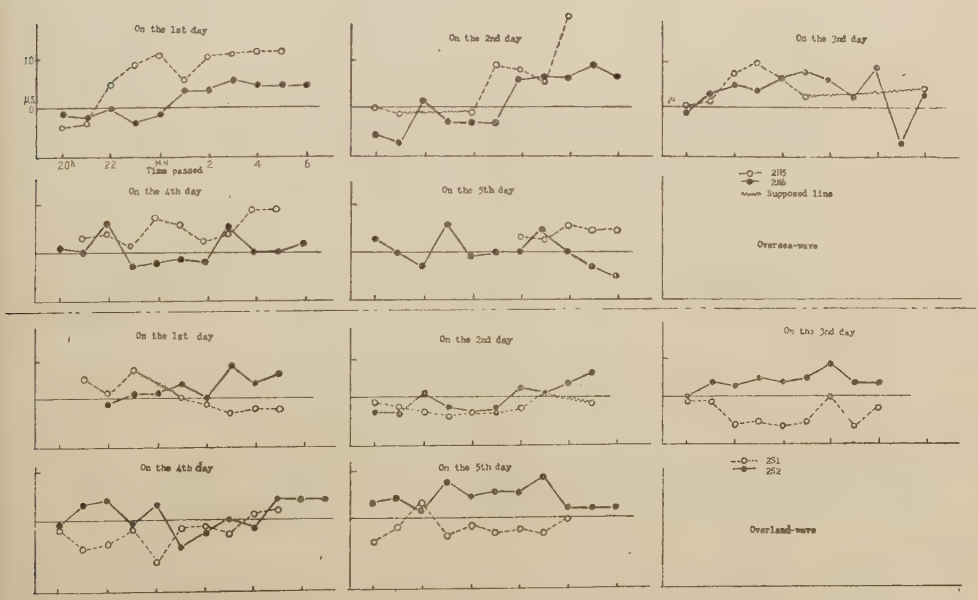


Fig. 3. Variation of Loran wave propagation in accordance with its two courses by land and by sea.

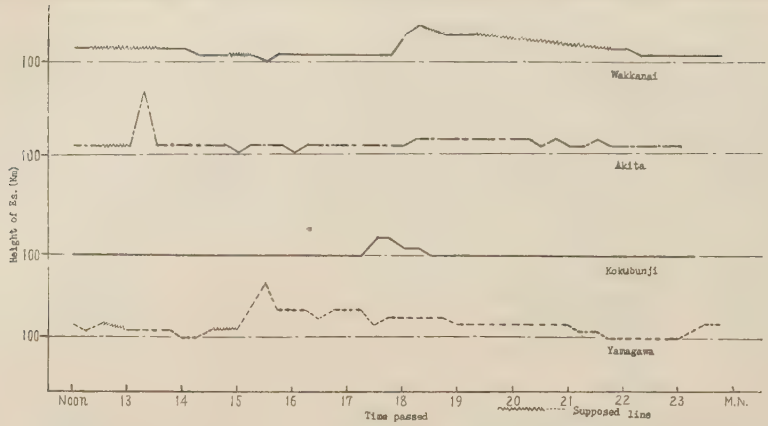


Fig. 4–1. Variation of Ionosphere height at the respective electric-wave observatory station on the 31st of July.

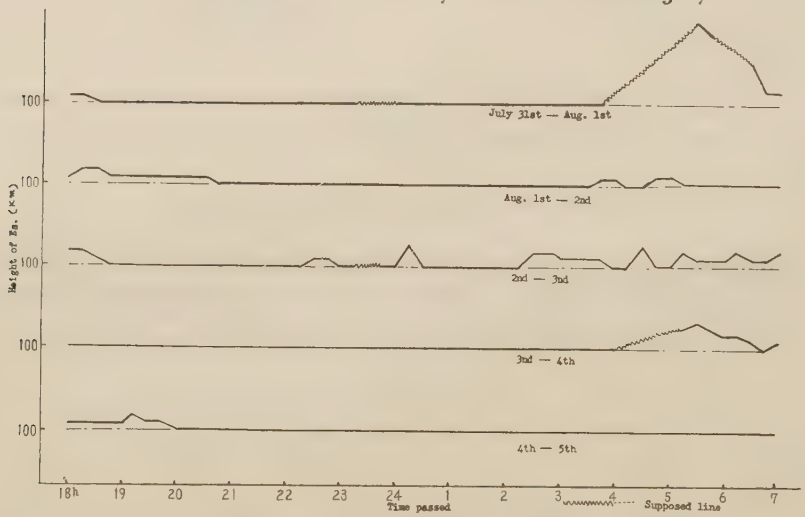
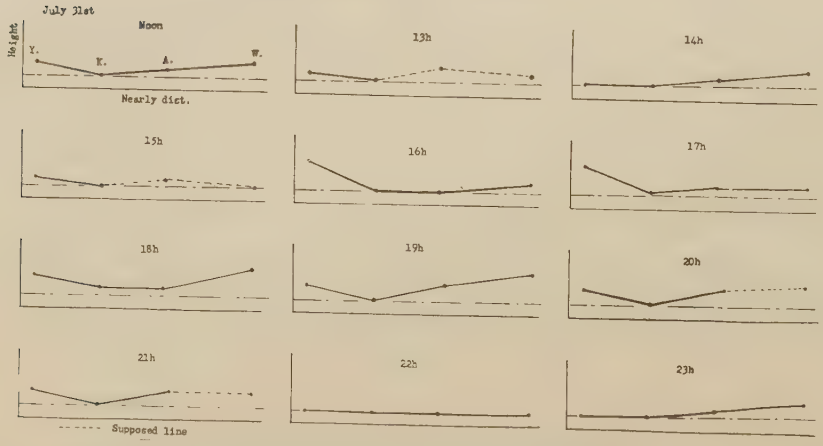

July 31st — Aug. 1st
Aug. 1st — 2nd
2nd — 3nd
3nd — 4th
4th — 5th
Height of Es. (Km)
100
18h 19 20 21 22 23 24 1 2 3 4 5 6 7
Time passed
Supposed line

Fig. 4–2. Variation of Ionosphere buring observed Five days at Kokubunji Observatory satation.



Y…yamagawa K…Kokubunji A…akita W…wakkanai

Fig. 4–3. Outline of the slanting-degree of Ionosphere (Es)

Loran table 掲載の，＊実用 Sky-wave correction（Table 1. 参照）と比較して，その変化状態を示したものである．亦，電波伝播の経路別（陸上経由と海上経由）の変化を，日別毎に Fig. 3. に示した．電波伝播に最も関係が深いと云われている，電離層（Es 層）の高さの変化状況を，観測した Sky-wave correction の変化と比較するため Fig. 4-1. Fig. 4-2.

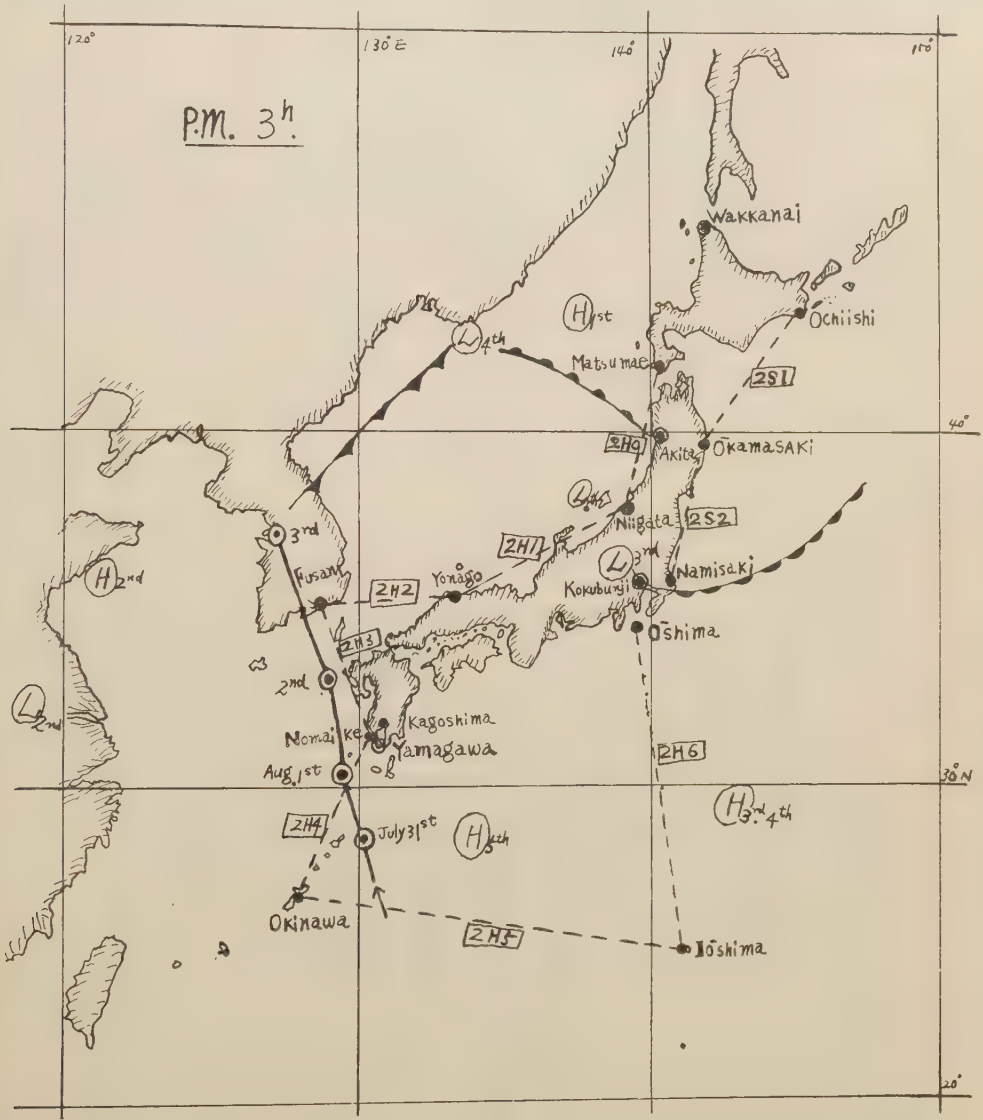


Fig. 5. Passage figure of typhon, the spots where low and high pressures were observed, position of the respective Loran station and electric-wave observatory station.

$$*\text{Sky-wave cor. } (\mu s) = D + 0.3\left(\frac{7000 - t}{1000}\right)^3 + 0.18 \times 10^6\left(\frac{7000 - t}{1000}\right)^{11}$$

上式は J. A. Pirce[4] の実験式で Loran table の Sky-wave cor. は此の式で求められた値である．

t: Ground wave の到達時間(μs)……7000μsまで適用

D: 重要常数で，冬65μs夏75μsの間を変化する最小 Skywave 遅延時間適用範囲1130Mile までである．

Fig. 4-3. に示した．此の図は伝播経路上の電離層の変化でなければ正しい比較にはならないと思うが，資料が十分にないので，参考程度にしかならないと思う．亦，気象現象との関聯性について検討するため，颱風の移動した針路，および低気圧，高気圧等の存在した地点の概略図を，Fig. 5. に示した．1昼夜の Loran 映像の変化状態，Fading，雑音信号，および観測する際の要点等を説明し参考に供するため，2H3，2H4について写真撮影したので編末に掲載する．(plate 1.) 以下項目に分けて考察を述べる．

(1) 観 測 資 料

観測資料を検討した結果，日出没時を境として，Ground-wave と Sky-wave との区切りがはっきりしているが，これは太陽の電離層におよぼす影響が大きいことを意味している．Ground-wave の測定値は Loran table から得た値と殆んど一致しているので，受信指示器は完全な作動をしていた事が認められる．観測中全般に亘って，耐えず注意して観測したので指示器の誤差は含まれなかったと云える．Table 2. で＊印は，*G.G. 或は**S.S. 以外の電波を測定した値で，考察の資料としては除外した．但し，2H3，および2H4については，G.G. と***G.S. を測定した．観測中，颱風の接近通過時に，Fading が激しく現われた事は，頻繁

Table 2. Measurements of difference by Loran.

Loran rates / Date and Time	2H0	2H1	2H2	2H3	2H4	2H5	2H6	2S1	2S2	Remark
July 31st				G.G.	G.G.					
Noon				3659	4913					
13					4913					
14					4913					
15										
16				3659	4913					
17					4913					
18					4914	*2703				
19						S.S.	S.S.	G.G.	G.G.	Sunset
	S.S.	S.S.	S.S.		*4955	2818	2891.5	4334	1394	19h-16m
20	3465	1164	*2503	G.S.	5042	2813	2893	4335	1395	
21	3465	1156	2526	3795	5035	2812	2891	4325	1395	
								S.S.	S.S.	
22	3470	1163	2525	*3835	5029.5	2804	2895	4328	1402	
					G.S.					
23	3464	1159	2528	3819	5020	2800	2892	4323	1400	
M.N.	3462	1155	2515	3809	5020	2798	2887	4337	1400	
Aug. 1st 1	3463	1148	2523	3802	5025	2803	2887	4329	1398	
2	3468	1143	2520	3797	5022	2798	2885	4330	1403	
3	3462	1147	2530	3796	5015	2798	2886	4332	1394	
4	3467	1145	2522	3796	5013	2797	2886	4331	1398	
5	3467	1146	2522	3795	5012	2797	2886	4331	1396	Sunrise
6				3795	5012					5h-33m
7				3795	5012					
8				G.G.						
9				3662	G.G.					
10				3663	4917					
11					4917					
Noon					4917					
13					4915					
14					4916					
15										
16										

* Master station の Ground-wave に対して Slave station の Ground-wave を重ね合わせる測定法
** Master station の Sky-wave に対して Slave station の Sky-wave を重ね合わせる測定法
*** Master station の Ground-wave に対して Slave station の Sky-wave を重ね合わせる測定法

Loran rates / Date and Time	2H0	2H1	2H2	2H3	2H4	2H5	2H6	2S1	2S2	Remark
17										
18			2532	3656	4913		2887			
19					4913 *5042	*2784 2810	2895. 5		1404	Sunset 19h–15m
20	3462	1163. 5	2523 2532	*3829	5030	2809	2899	4330	1404	
21	3464	1162	2532	*3830	5030	2810	2898	4331	1404	
22	3463. 5	1163	2532	*3823	*5063	*2841	2889	4331. 5	1400	
23	3462. 5	1167	2521	*3828. 5	*5055	*2830	2894	4332	1403	
M.N.	3463	1166	2525	*3831	*5050	2810	2895	4334	1404	
Aug. 2nd 1	3458	1165	2533	*3824	5025	2800	2895	4334	1404	
2	3467	1157	2537	3804	5027	2801	2884	4332	1398	
3	3468	1155	2532	3804	5022	2799	2884	4328	1390	
4	3468	1156	2533	3802	5023	2804	2884	4328	1398	
5	3471	1155	2534	3800	4913	2790	2880	4330	1395	Sunrise 5h–33m
6	3464	1150	*2664	3662	4919	2695	2882			
7		1149	*2665	3659	4919					
8			*2664	3662	4914					
9			*2664	3662	4915					
10				3664	4917					
11				3662	4915					
Noon				3662	4916					
13				3662	4916					
14				3660	4916					
15				3663	4914					
16				3663	4916					
17					4910					
18				3660	4915	*2700	2878			
19	3462. 5	1162	2528	3665	5030	2800	2894	4329	1403	Sunset 19h–14m
20	3463. 5	1159	2530	*3822	5035	2809	2891	4330	1400. 5	
21	3467	1164	2530	*3823	5030	2808	2888	4330	1398	
22	3470	1166	2523	*3850	5027	2802	2886	4335	1399	
23	3467	1167	2539	*3844	5026. 5	2800	2898. 5	4334	1397	
M.N.	3464	1163	2500	*3840. 5	5026	2803	2884. 5	4336	1398	
Aug. 3rd 1	3466	1163	2500	*3841	5026	2807	2882. 5	4334	1397	
2	3460	1168	2529	*3837	4914	2696 *2822	2886	4328	1394	
3	3462	*1185	2530	*3835	*5049	*2831	2889	4335	1397	
4	3462	*1179	2524	*3841	*5056	*2831	2881	4331	1397	
5	3466	*1174	2532	*3844	*5083	*2844	2899			Sunrise 5h–34m
6	3466			*3824	5020	2805	2887			
7	3469	1158	*2665	3660	4917					
8			2664	3658	4915					
9				3660	4916					
10				3660	4915					
11				3662	4915					
Noon				3663	4914					
13				3660	4913					
14				3660	4915					
15				3660. 5	4915					
16				3660	4913					
17				3663	4914	*2700				
18	3462	*1185	*2695	3662	4916	*2698	2885	4332	1398	Sunset 19h–13m
19	3460	1162	*2690	3660	4915	*2690	2890	4325	1403	
20	3462	1158	2527	3660	4916	*2686	2890	4331	1398	
21	3467	1161	2530	3817	5028	2806	2892	4335	1397	
22	3470	1154	2524	3806	4912 5024	2805	2885	4334	1402	
23	3464	1161	2531	3819	5025	2808 *2694	2894	4331	1397	
M.N.	3459	1156	*2505	*3837	5020	2802	2894	*4340	1407	
Aug. 4th 1	G.G. 3471	1161	2531	3806	5024	2803	2892	4332	1404	

Loran rates / Date and Time	2H0	2H1	2H2	2H3	2H4	2H5	2H6	2S1	2S2	Remark
2	3471	1153	2527	3808	5020	2807	2893	4331	1401	
3	3464	1150	2530	3808	5020	2805	2886	4332	1403	
4	3465	1153	2535	3800	5018.5	2800	2892	4328	1396	Sunrise
5	3464	1150	2530	3801	5016	2800	2891	4327	1396	5h–34m
6		1169		3660	4912	*2700	2888		1400	
7			*2661	3660	4913		2890			
8			*2667	3661	4916					
9				3660	4914					
10				3661	4915					
11				3659	*3788 4915					
Noon				3662	4915					
13				3662	4915					
14				3660	4915					
15				3661	4915					
16				3660	4913					
17				3661	4916					
18				3664	4915	*2699	2890			Sunset
19	3465	1155		3661	4917	*2697	2893	4331	1399	19h–13m
20	3464	1151	2672	3665	4915	*2701	2889	4330	1398	
21	3464	1156	2665	3660	4918	*2705	2891	4331	1396	
22	3466	1155	2673	3662	4915	*2694	2894	4331	1400	
23	3465	1146	2525	3661	4917	*2698	2885	4325	1392	
M.N.	3470	1147	2528	3665	4915	*2704	2892	4334	1397	
Aug. 5th 1	3465	1157	2524	3664	4916	2707	2891	4332	1397	
2	3466	1158	2525	3665 3665	4920 5025	2705 2806	2891	4332	1397	
3	3465	1158	2526	3797 3668	4920 5025	2706 2806	2887	4331	1393	
4	3465	1158	2525	3807 3805	4920 5024	2704 2803	2891	4332	1400	
5	3465	1155	2530	3663 3663	4923 5024	2702 2804	2894	4334	1400	Sunrise 5h–35m
6	3465	1163	2525	3662	4914	2704	2896		1400	
7		1157	2671	3661	4917	2700	2890			
8		1157	2662	3661	4916					
9				3662	4918					
10			2667	3663	4916					
11					4915					
Noon					4918					

G. G. Result got by measuring the slave station ground wave to the master station ground wave.

S. S. Result got by measuring the slave station sky wave to the master station sky wave.

G. S. Result got by measuring the slave station sky wave to the master station grouud wave.

* Unured data

な落雷に起因すると推定される.

晴天で，平穏だった8月4日より5日にかけてはSky - waveは割合に安定して受信されたので，高気圧帯内の観測は容易であり，測定値は比較的好精度であると思われる.

(2) Sky-wave correctionの変化

Fig. 2. はLoran tableより求めたSky-wave correctionを基準線（oμs）として，観測によって得た，Sky - wave correctionの5日間の変化を示した図である．2H1，2H3，および2H4の3局については，Loran tableにはSky-wave correction欄に“Do not use sky wave”と記して，空欄になっているが，観測値がどの様に変化するかを見るために，各局

と同様に変化図を示した．以下局別に検討する．

2H0：測定値は基準線より上下に変動しているが，最大8μs位の範囲内で，大部分は一側に偏して見られるので，一の誤差があると考えられる．しかし年間の資料によらなければ，的確なことは云えないし，また海上の定点で観測して比較検討してみなければ，陸地の影響とも思われるので，考慮の余地がある．

2H1：測定値の変化の特徴として，日没より時間の経過につれて，次第に少なくなって行く傾向が見られるが，その原因は明らかでない．或いは気象現象に関係があるのではなかろうか．

2H2：傾向が＋側に偏して最大 10μs の範囲内に散在している．Table 1. に示した様に，この局の Position line の精度は1μsにつき0.19Mile の誤差となるので，最大誤差として考えても，2Mile 位の誤差になるので，実用上は重大視する程の誤差ではないと思う．(Sky-wave としては)

2H3：颱風通過の Fading の影響等で資料が足りないので，考察はできないが，かなりの変動がある様に思われる．

2H4：日没から時間の経過と共に，測定値は降下しているが，その原因は明らかでない．しかしながら，この様な傾向にある事は甚だ興味ある問題であるので，資料の充実と共に，今後の研究にまちたい．此の局は颱風の通過に関係があったので，気象条件の項で更に考察を加える事にする．

2H5, 2H4：共に 約15μs の巾で日没後時間の経過と共に，僅かづつ変動しながら＋側に増加していく傾向の様であるが，海上経由の電波伝播の特徴ではなかろうか．2S1，2S2：共に時間経過に対する傾向は見られないが，2S1は一側，2S2は＋側に偏在している．当観測点は此の局の基線延長線附近にあり，その精度は落ちると考えていたが，測定値からは比較的好精度を示す様に思われる．Sky-wave は遠距離の方が精度がよいと云われている事の1例とも云える．

(3) 経 路 別 の 比 較

観測した各局の内，電波伝播の経路が概ね一致すると考えられる．2H5と2H6(海上経由)および2S1と2S2（陸上経由）の2組について考察する．日別に各組共その観測した Sky-wave correction の変化を示したのが Fig. 3. である．図については，概ね各組局とも日別にほぼ同じ様な変化が見られ，並行の変化傾向を示している．海上伝播の局については特に資料はないので，その原因は検討できないが，陸上経由のものは，運輸省電波研究所の電離層の資料を得たので，それと対照して，電離層(** Es 層）との関係について考察を試みた．尚，東京国分寺観測所以外の観測所については，7月31日の資料しか得られなかったので．十分な考察は出来ないが，後日資料を得て更に検討したい．Fig. 4-1. は国分寺における5日間の Es 層の変化を示したもので，Fig. 4-2. は（7月31日の資料のみ）稚内，秋田，山川の各観測所を含む各地の電離層の変化を示したものであり，また Fig. 4-3. は7月31日の電離層の南北傾斜を概略あらわしたものであるが，Fig. 4-2. と関係局とを較べると，Es 層は18時頃より変化がなく日出前頃高くなっているのに対し，2S2の測定値の変化も増している．2S1は関係すると思われる地域の Es 層の高さが判らないので，関聯性を考察する事は出来

**Sporadic E層

ない．2日目は1日目と同様にEs層が日出前頃に高くなっているのに対し，測定値も増加して居るので，電離層の高さの変化と概ね一致して居る．3日目は夜半前と，日出前に同様の変化を示して，両者の関係が一致して居る事が，概ね判る．4日目は3日目と似た現象で同じ傾向を示しているが，午前2時頃に測定値は減少しているのに対しEs層には変化は見られない．而し，Fig.5.に示した様に，当日は局附近を低気圧が通過した頃に相当するので何か影響があったのではなかろうかと考える．5日目は夜半より夜明けにかけては，概ね並行状態の変化であり，日出頃に若干の相違が見られるが，Es層の資料が十分でないので，その原因を明らかにする事は出来ないが，少くとも，電離層が関係を持つと云える．

海上経由についても同様の事が考えられるが資料がないので，何とも云えないが，2つの経由局が，図の様に並行変化が見られる事から察知出来る．

(4) 気象現象との関係

Fig.5.は観測した5日間の気象現象を1図にまとめたものである．図に示した様に颱風の通過に伴い，電波伝播経路を遮断されたと見られる2H2，2H3，2H5および2H6について検討すると（Fig.2.の関係局参照）4局とも，1日目の測定値の変動が大きく，2日目，3日目も同様に見られるが，4日目および5日目は，前3日間と較べて測定値の変動が小さくなり比較的安定になっている．察するに颱風の影響がなくなった事が原因と見られる．特に5日目は更に安定している事から前述の事が認められる．即ち颱風は電波の伝播に影響すると考えられる．此の事は前項の低気圧通過の現象にも見られたが，果して低気圧の気圧変化か或いは湿度か，或いはまた気温の変化か，ともかく将来の研究に挨ちたい．颱風はFadingを伴なうので観測誤差が含まれると思うが，観測誤差のみでない事は断言出来る．

(5) 映像写真について

8月4日午前9時より5日の午前9時まで2H3，2H4両局の1時間毎の映像を示したのが編末のplate 1.である．映像は両局とも鹿児島に近い野間池が主局であるので，指示器のUpper-traceに強く，Lower-traceに弱く現われるので，理想的な観測像を得るには，Amplitude ballance controlおよびReciever gain controlを調整した．撮した写真にはLower-traceに雑音信号が現われている．(Slow sweepとMedium sweepの写真を参照）夜間Sky-waveの像はFadingがあり，時に強く現われる場合もあるが，Fast-sweepの夜間の映像写真には大部分此の現象が見られる．撮影は像の安定時機を選んで行なったので，前述のFadingは見られない写真もある．夜間においては，Medium sweepで見られる様に，両局のUpper-trace, Lower-traceに1-HP-E，1-HP-2，1-HP-F等が現われ，その勢力の変化状況が見られるが，昼間においては，極めて単調で主としてGround-waveのみが現われている．

2H3の23hのFast sweep像は，Slave station像を20μsずらせた状態であり，2H4のM.N.のFast-sweep，2H4の9hのMedium sweepも同様に20μsずらせた像であるので，20μsの間隔がどの位であるかが判ると思う．此の事は像の選択を誤まらせないための時間差間隔の検討に，特に初心者には参考になると思う．Medium sweepで厳重に重ね合わせてFast sweepに切替えた場合の像のずれ具合を，2H4，22h Fast sweepに示したが，Sweepを切替えた時のFast sweepに起るずれが判ると思う．Amplitude balance controlを調整しなかった時の状態を両局の10h，11hおよび2H4の23hに示した．これはSlow sweepの時

から注意して調整しておかないと同じ操作を繰り返す事になるので測定時間の無駄になる．なるべく1操作で測定した方が，船位決定にも誤差を少くする事が出来るので熟練を要する点である．理想的な映像は2H4のNoon，2H3の21h，2H3の 2h 等である．2H4, 13hのFast sweep，及び, 2H4, 21h の Fast sweep の像は Reciever gain control の上げ過ぎであるがこの様な像は一見よい様に思われるが，誤差を含んでいるので Gain control cを下げなければ，正しい時間差は測定出来ないのである．その反対が，2H3 Noon の Fast - sweep, 2H4 23h の Fast sweep であって，もう少し Gain control を上げる必要がある．日出没時，或いは夜半頃には， Fading が現われ映像を重ね合せるのがやや困難になるので，安定する時機を十分に見定める必要がある．日出没時の G.G. と S.S. の切替時になると， Fading が急激に現われ，又映像振巾の変動が急になり，間もなく消滅するので，航海者は此の様な現象を念頭に置かねばならない．以上映像変化の状況，並びに観測についての要点にふれた．

VI. む　す　び

以上考察の結果，資料が十分でないので的確な結論は下し得なかったが，概ね次の事が云える．

(1) 鹿児島における各局の Sky-wave correction は (Loran table から求めたもの)，実測値と若干の相違があるが，実用上大きな支障はないと云える．而しながら，時により誤差の変動が現われるので注意しなければならない．

(2) Sky-wave correction は，海上経由と，陸上経由の Loran wave では，その変化状況が異ると云えるが，同じ経路で到達したものは，概ね同じ変化を示すと考えられる．

(3) 颱風は Loran の測定時間差に影響するものと思われるが，その気圧，気温，湿度等の急変に起因するのではなかろうか．此の事は航海者に特に関係が深いので，慎重に研究されなければならないと思う．

(4) 間もなく消えんとする電波の映像は Fading および映像振巾が急激に大きく変動するので，航海者は特に念頭に入れて置き，観測時機を失わない様に注意すべきである．

(5) 或る場合においては，Ground-wave が夜間に入っても異常に遅くまで観測できる場合があるが，好天候の時に見られたので，気象条件に関係する様に思われる．

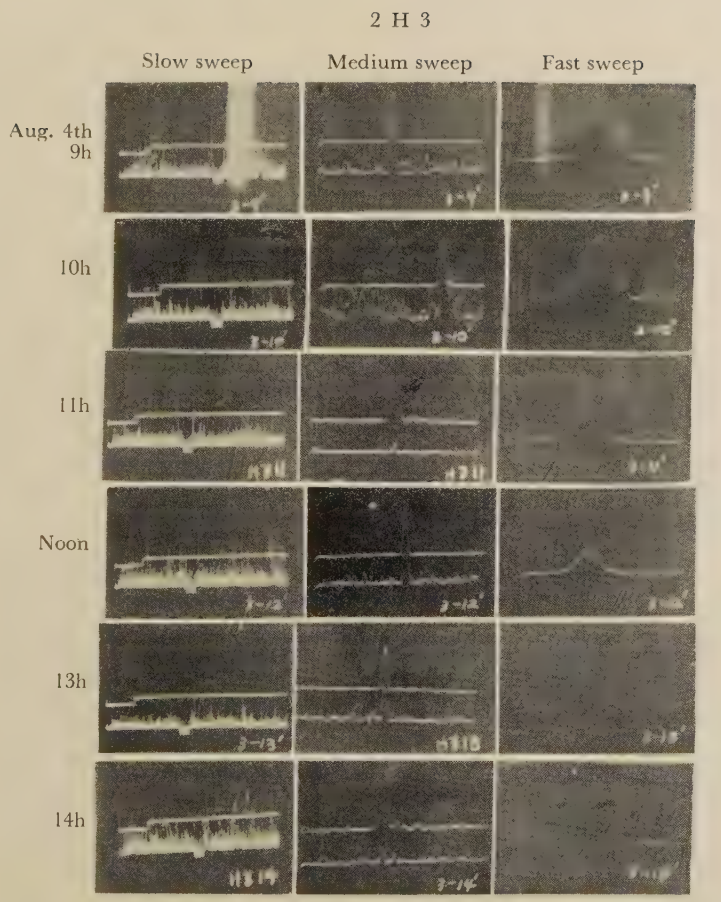
(6) 写真の観察結果から，観測者は熟練しないと測定誤差が含まれるので，観測技術を高めて置く必要がある．

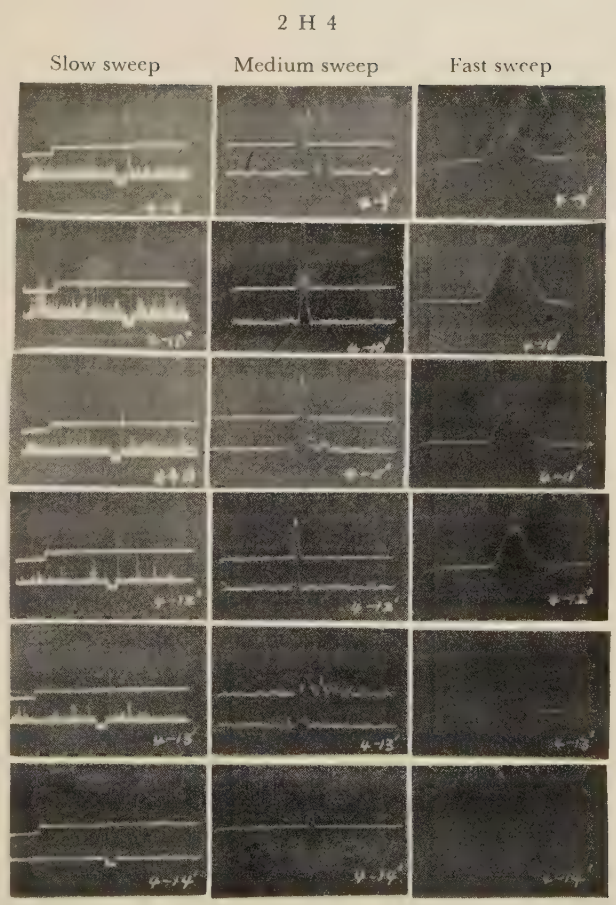
尚，考察は短期間特定な場所で観測された資料によって行ったので，断定的な事は云えなかったが，今後，更に研究を進めて行きたいと思うので，諸賢の御指導と御叱正を願う次第である．

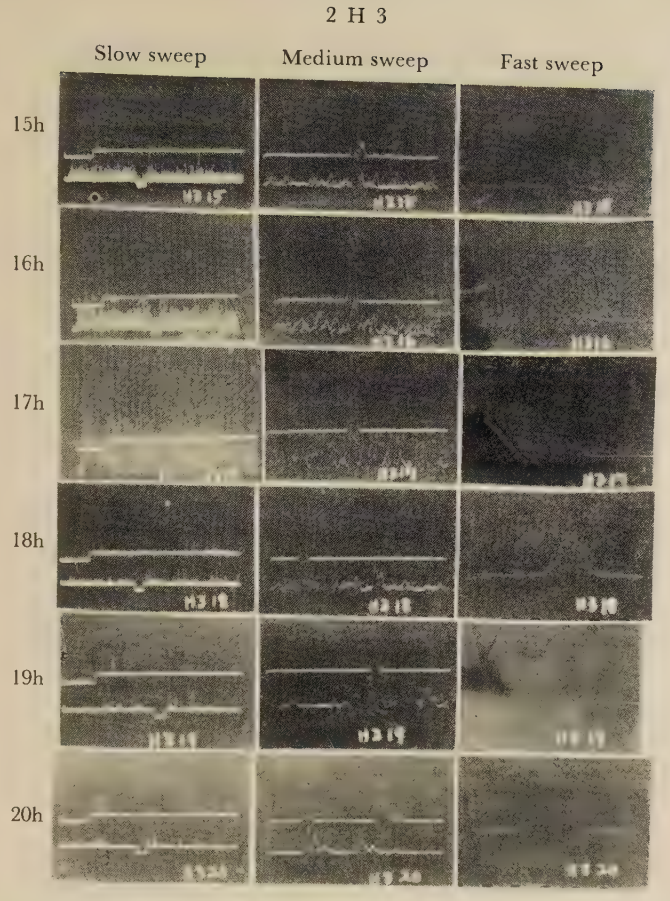
終りに，実験に協力を載いた光電製作所，並びに日本無線株式会社鹿児島出張所，の関係諸氏，本学部学生園田君，電離層関係の資料を提供して載いた運輸省電波研究所の越智氏，研究について終始激励を給わった本学部高橋教授，皆元教授に深く感謝の意を表する．

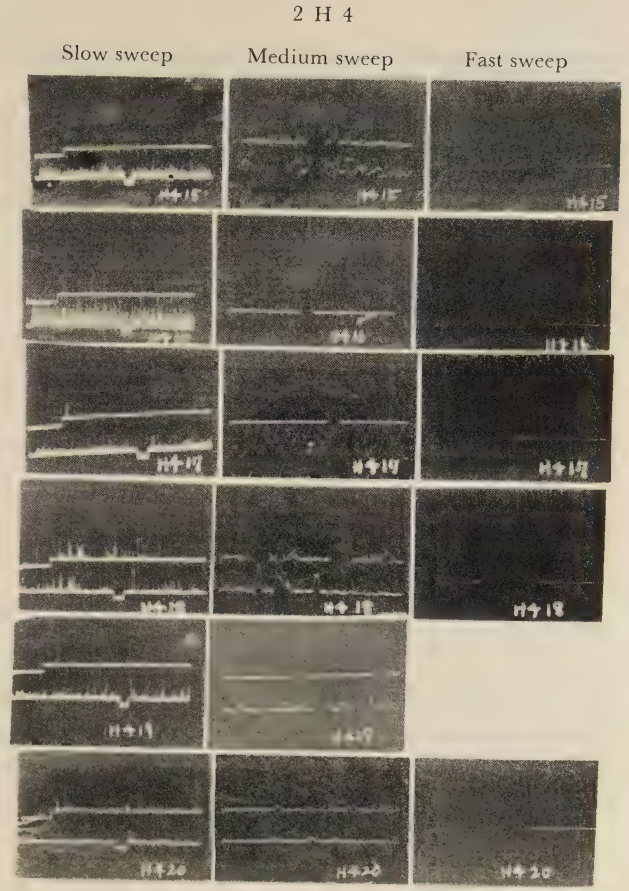
文　　献

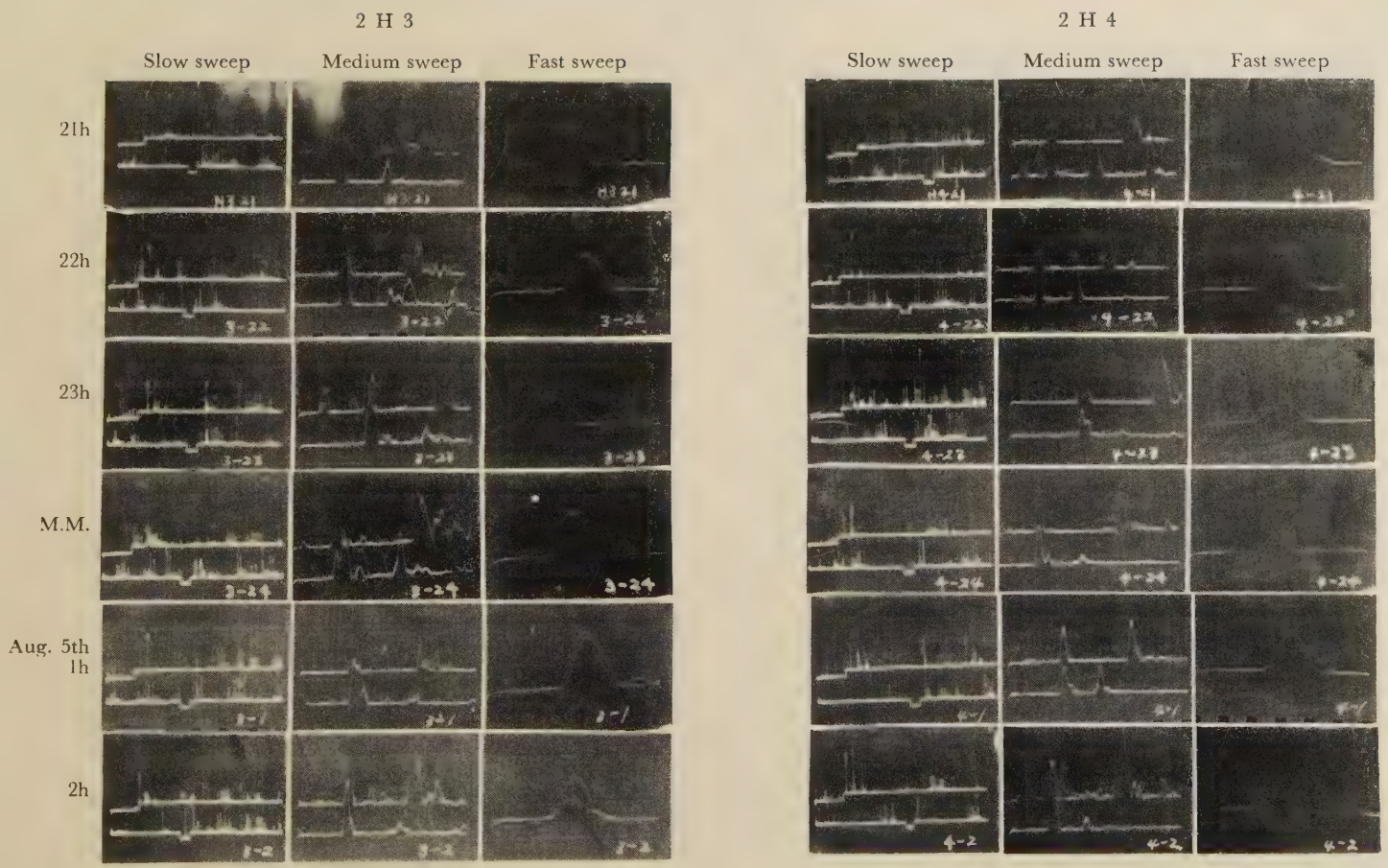
(1) 青山嶺次：1958，船舶用ロラン，オーム社．
(2) 上田，河野：1954，電波伝播，オーム社．
(3) Aono, Kobayashi, Ouchi, Nemoto: 1954, Measurement of Loran waves. Journal of the Radio research laboratories, vol. 1, No. 6.
(4) Pierce, Mckenzie and Wood Ward: 1948, Loran Radiation laboratory series, No. 4.


2 H 3
Slow sweep
Medium sweep
Fast sweep
Aug. 4th 9h
10h
11h
Noon
13h
14h


2 H 4
Slow sweep
Medium sweep
Fast sweep


2 H 3
Slow sweep
Medium sweep
Fast sweep
15h
16h
17h
18h
19h
20h


2 H 4
Slow sweep
Medium sweep
Fast sweep


2 H 3
Slow sweep
Medium sweep
Fast sweep
21h
22h
23h
M.M.
Aug. 5th 1h
2h
2 H 4
Slow sweep
Medium sweep
Fast sweep

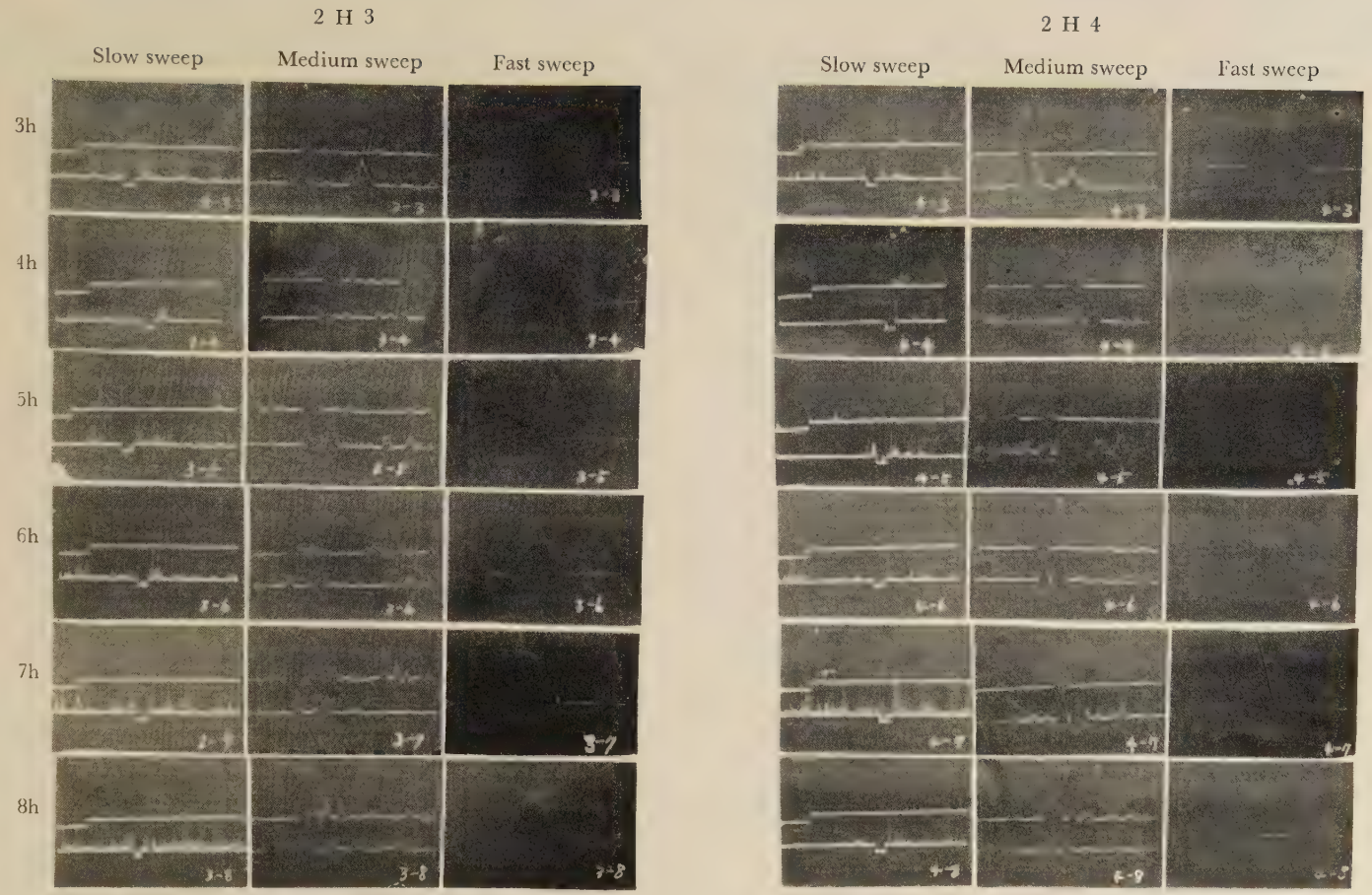


Plate 1, Variation Image of 24 hours observed each one hour at the two Loran stations ; 2H3and 2H 4.

鹿児島大学練習船かごしま丸の建造費について

高　橋　健　蔵

On the Building Cost of "Kagoshima-maru", Fisheries Training Ship, Kagoshima University

Kenzo TAKAHASHI

Abstract

The fisheries training ship "Kagoshima-maru" was built at Mukaishima Shipyard, Hitachi Zosen Co., Ltd. where the work was started on Jan. 16th, 1960 and completed on Sept. 15th, 1960.

The construction, ability and equipments of this ship are most superior for the fisheries training ship and the prinicipal particulars are shown in Table 1.

The purpose of this paper is to show the items of the building Cost of this ship (350,000, 000 yen) and to give a good reference to the next ship of this kind to be built.

The most remarkable fact shown in this paper is that the Electricity Part holds about 23% of the whole building Cost (See Table 8.) and this fact clearly shows that the equipments of this ship are highly electrified.

Table 1. The principal particulars of F.T.S. "Kagoshima-maru"

Length by the Rule	60. 50m	Main engine	
Length B.P.	59. 60 〃	Hanshin T6TS Single acting 4 cycle	
Breadth Mld.	10. 80 〃	Supercharged Diesel engine	1 Set
Depth Mld.	5. 39 〃	Max. designed output	1, 700 P.S. × 245 r.p.m.
Designed load draft	4. 30 〃	Normal output	1, 440 P.S. × 232 r.p.m.
Gross Tonnage	1038. 14T	Main Generators	
Net Tonnage	322. 71T	A.C. 450V, 200 KVA	3 Sets
Fish hold	30. 38m^3	Trial Speed	15. 512 Knots
Fuel oil tank	349. 17 〃	Sea Speed	abt. 12. 500 〃
Fresh Water tank	226. 46 〃	Days of Run	abt. 44 Days
Lubricating oil tank	24. 2 〃	Endurance	abt. 13, 200 Miles
Complement		Classification	NK, NS*, MNS*
offier	15	Builder	Hitachi Zosen Co., Ltd.
Teacher	5		Mukaishima Shipyard
Crew	27	Keel laid	Jan. 16th, 1960.
Student	48	Launched	Jul. 11th, 1960
Total	95	Delivered	Sept. 15th, 1960.

1. まえがき

本船は日立造船株式会社向島工場において昭和35年1月16日起工，同年9月15日竣工引渡を受けた鹿児島大学の漁業練習船で，その構造・性能・艤装等は近代科学の粋をを取り入れた優秀なものである．本船の建造経過・設計の要点・一般配置・諸装置・海上試運転成績，並に諸試験成績等に関しては漁船協会の機関誌〝漁 船〟第110号（昭和35年12月発行）に詳しく記載したが，本文には本船の建造費の内訳について記述する．従来この種のもので公表されたものを見当らなかったので，他の練習船との比較はできなかった．

2. 船型及び船の大きさ

船型は船首楼・長船尾楼付のサイド・トロール型である．

その主要寸法は

長さ（漁船法による）	60・50米
幅　（型）	10・80米
深　さ（型）	5・39米

で総トン数は　1038・14トン

であるが，総トン数に算入されていない容積が Table 2 に示す通りかなり多い．

Table 2. The Capacity not included in Gross Ton

Position and Name	Capacity (m^3)
Forecastle	
Wash and Dry Machine in Cadet's Lavatory	3.277
Cadet's W.C.	18.401
Space for Controller of Windlass	2.611
Companion Room	5.647
Canning Plant	58.756
Total	88.692
Poop	
W.C. (Centre)	5.520
〃 (Officer)	12.522
〃 (Crew)	17.596
〃 (Hospital)	2.893
Companion Room	12.991
Steps	4.262
Space for engine room	86.957
Wash and Dry Machine in Crew's Lavatory	6.259
Galley	57.870
Air Conditioning Machine	4.931
Space for Ventilation and Light	3.840
Escape Hole	1.146
Total	216.787
Boat Deck	

Companion Room	7.414
Air Conditioning Machine	2.426
Total	9.840
Steering Room	
Companion Room	0.856
Total	0.856
G. Total	316.175m³
($\frac{1000}{353}$ m³ per ton)	111.61 Tons

3. 建造予算と入札

本船建造の予算は3億5千万円で，昭和34年11月26日鹿児島大学本部会議室に当方より指名の11社の代表者を集めて入札を行ったが，その結果は Table 3 に示す通りであった．

Table 3. The Result of the Tender

Tenderer		Cost	Remark
Ishikawajima Jukogyo Co., Ltd.		379,000,000	
Uraga Dock	〃	399,000,000	
Hitachi Zosen	〃	347,000,000	Successful Bidder
Fujinagata Zosen	〃	369,000,000	
Harima Zosen	〃	349,500,000	
Kawasaki Jukogyo	〃	—	Declined
Mitsui Zosen	〃	—	〃
Nihon Kokan	〃	362,000,000	
Mitsubishi Zosen	〃	368,000,000	
Mitsubishi Nihon Jukogyo	〃	374,000,000	
Shin Mitsubishi Jukogyo	〃	405,000,000	

これら11社のうち2社が辞退したので結局9社の競争となった．予想としては仕様書の内容から見て最初の入札では到底落札は難しく多分内容を改削して再入札か或はもっと複雑な段階にいるのではないかと案じていたが，入札の結果は意外にも日立造船株式会社と播磨造船株式会社の2社が予算内の金額を入れた．結局250万円の僅差で34,700万円を入れた日立造船株式会社に落ちた．

このように只1回の入札で落ちたことは全く珍らしいことで，その原因については色々な見方があると思うが，

1. 造船界の不況
2. 手持船の寡少
3. 官庁船引請の魅力

等があげられるのではないか．

又この入札の結果から見ると，

1. 落札価 ¥ 347,000,000

2. 平均入札価　¥ 372,500,000
3. 最高入札価　¥ 405,000,000
4. 平均入札価—落札価　¥ 25,500,000
5. 最高入札価—落札価　¥ 58,000,000
6. 最高入札価 -平均入札価　¥ 32,500,000

となっておるが，これらにより或る程度当時の見積価格の大勢を推察できるのではないかと思う．

4. 建造費の大別

前述の通り本船の建造予算は3億5千万円であったが，その使途を大別すると Table 4 の通りである．

Table 4. The Expenditure of the Budget

Item	Cost	Remark
Main Work	¥ 347,000,000	
Additional Work	1,513,000	
Travel Expenses	1,186,000	
Charge for N.K. Superintendent	300,000	
Balance (Returned to the Government)	1,000	
Total	¥ 350,000,000	

この中でN. K.（日本海事協会）の監督料とあるのは，次のような条件のもとに監督を依頼したことに対する謝金である．

鹿児大学鋼製練習船建造監督の依頼について

A．概　要

イ．鹿児島大学鋼製練習船建造に伴い監督は船主及び貴協会監督とし主任監督は船主側より任命する．船主監督が常駐出来ない現状の為普通の船主の監督程度を貴協会に依頼する．

ロ．貴協会監督の範囲及び内容については下記の通りとする．
なお詳細に亘る技術的内容は双方別途協議の上決定する．

B．監督依頼事項（図面審査及び現場確認）

1. 船体構造関係
構造図としてヤードプラン迄の調査及びその現場確認を行うこと．
2. 性能関係
船体の安定性能について入級船と同程度の合理性について検討及び現場確認を行うこと．
3. 機関関係
機関室の配置，各補機，ポンプの容量配管などの合理性について検討及び現場確認を行うこと．
4. 電気関係
電気艤装工事（配線及び機器配置等）の合理性について検討及び現場確認を行うこ

と.

5. 艤 装 関 係

揚貨，揚錨，繋船，操舵，救命，消火，冷蔵，通風諸管の各設備関係の図面調査及び現場確認を行うこと.

C. 添 付 書 類

イ. 鹿児島大学鋼製練習船建造仕様書及び一般配置図各2部.

以 上

次にN. K. に監督を依頼して得た結果について，

1. 尾道市にはN. K. 因島支部の分室があり検査官が常駐されているので船主代行の監督をして貰うのに都合がよかった.
2. 甲板，機関の両関係監督官が依頼範囲内の監督を非常に熱心にやって下さったことは勿論，依頼範囲外の事でも大事なことは当方に連絡・注意していただいた.
3. 技術面において学校側監督及び艤装員の良い相談相手になっていただいた.
4. 造船所との交渉を当方の有利になるよう色々努力していただいた.
5. N. K. 入級船として順調に工事を進めることが出来た.

等の結論を得た.

5. 総トン当り船価

本船建造の予算は3億5千万円であったが，その中には旅費・謝金等約150万円を含んでいるので純工事費は予算よりこれを差し引いたものとなるが，本船の総トン当り船価はTable 5の通りとなる.

Table 5. The Cost per Gross Ton

Amount	Cost per G.T.	Remark
Budget (350,000,000)	¥ 337,141	
Work only (348,513,000)	335,709	

次に昭和29年以降建造された9隻の漁業練習船について建造船価を調査して見たが各船共その仕様書内容を異にし，又当時の造船界のすうせいや造船所の事情等もあって相互比較の対象とするには不適であるがほんの参考迄にTable 6を作ってみた.

Table 6. The Building Cost List of The Fisheries Training Ships

Owner	Ship's Name	G.T.	Builder	Date of Completion	Building Cost (abt.)	Cost per G.T. (abt.)
The Tokyo University of Fisheries	Umitaka-maru	1387.72	Fujinagata	Aug. '55	¥ 488,000,000	¥352,000
The College of Fisheries	Koyo-maru	1215.33	Mitsubishi Shimonoseki	Sept. '58	479,000,000	394,000
Kagoshima University	Kagoshima-maru	1038.14	Hitachi Mukaishima	Sept. '60	348,513,000	336,000
Hiroshima Prefecture	Satsumaseiun-maru	220.78	Nihon Kokan Shimizu	Sept. '60	73,000,000	331,000

Hiroshima University	Toyoshio-maru	71.84	Hayashikane Zosen	Mar. '59	27,900,000	338,000
Hokkaido University	Hokusei-maru	221.61	Miho Zosen	Feb. '57	79,500,000	359,000
Ishikawa Prefecture	Kano-maru	152.26	Konishi	Apr. '57	44,700,000	294,000
Kanagawa Prefecture	Miura-maru	160.07	〃	Mar. '57	59,800,000	374,000
Kagoshima University	Keiten-maru	265.09	Mitsubishi Shimonoseki	Feb. '54	69,100,000	261,000

6. 工事費総括表

本工事は落札価3億4千7百万円で進めたが，その後必要止むを得ざる工事がでてきたので予算中より約150万円を追加支出することになった．これら工事費の総括表及び3部門の工事費百分比は Table 7 及び Table 8 の通りである．

Table 7. The General Cost List of the Work

Division	Part		Name of the Work	Cost: Main Work	Cost: Additional Work	Cost: Total
Direct Work Cost	Deck	1	Hull	¥54,013,000	—	54,013,000
		2	Equipment	41,995,950	37,100	42,033,050
		3	Refrigerator	20,980,000	50,000	21,030,000
		4	Fishing Arrangement	11,164,000	268,000	11,432,000
		5	Fittings	26,219,000	260,000	26,479,000
		Total		154,371,950	615,100	154,987,050
	Engine	6	Main Engine, Shaft, Propeller and Setting	31,790,000	—	31,790,000
		7	Aux. Engine and Setting	26,503,000	52,000	26,555,000
		8	Engine Equipment	12,247,000	215,600	12,462,600
		Total		70,540,000	267,600	70,807,600
	Electricity	9	Electric Source	17,016,000	—	17,016,000
		10	Lighting and Communication	8,115,000	—	8,115,000
		11	Motive Power	2,898,000	—	2,898,000
		12	Wireless and Instruments	38,191,000	350,300	38,541,300
		Total		66,220,000	350,300	66,570,300
	D.W. Total			291,131,950	1,233,000	292,364,950
Common Expense	Indirect Expense			36,173,050	194,250	36,367,300
	General Control Expense			19,695,000	85,750	19,780,750
	C.E. Total			55,868,050	280,000	56,148,050
	G. Total			347,000,000	1,513,000	348,513,000

Table 8. The Cost Percentage of the Direct Work Occupied by 3 Parts

Part	Cost	Percentage
Deck	¥ 154, 987, 050	53.0%
Engine	〃 70, 807, 600	24.2〃
Electricity	〃 66, 570, 300	22.8〃
Total	¥ 292, 364, 950	100.0%

7. 各部工事費

直接工事費は上表掲記通り，船体部，機関部，電気部の3部門に大別して主要工事費を明らかにしたが，更にこれを材料費・労務費・役務費の費目を設けて Table 9, Table 10, 及び Table 11に掲記した.

Table 9. The Cost of the Direct Work for Deck Part

Name of Work	Cost				
	Materials	Labour	Service	Total	Percentage
Hull	¥35, 243, 000	¥ 3, 960, 000	¥14, 810, 000	¥54, 013, 000	34.8%
Hull Equipment	30, 085, 050	7, 468, 000	4, 480, 000	42, 033, 000	27.1〃
Refrigeration	19, 175, 000	1, 000, 000	855, 000	21, 030, 000	13.6〃
Fishing Arrangement	10, 732, 000	200, 000	500, 000	11, 432, 000	7.4〃
Fittings	26, 279, 000	200, 000	—	26, 479, 000	17.1〃
Total	¥121, 514, 050	¥12, 828, 000	¥20, 645, 000	¥154, 978, 000	100.0%

Table 10. The Cost of the Direct Work for Engine Part

Name of Work	Cost				
	Materials	Labour	Service	Total	Percentage
Main Engine, Shaft, Propeller and Setting	¥30, 107, 000	¥ 835, 000	¥ 848, 000	¥31, 790, 000	44.9%
Aux. Engine and Setting	25, 462, 000	100, 000	993, 000	26, 555, 000	37.5〃
Engine Equipment	6, 333, 100	3, 470, 000	2, 659, 000	12, 462, 600	17.6〃
Total	¥61, 902, 100	¥ 4, 405, 000	¥ 4, 500, 500	¥70, 807, 600	100.0%

Table 11. The Cost of the Direct Work for Electricity Part

Name of Work	Cost				
	Materials	Labour	Service	Total	Percentage
Electric Source	¥16, 316, 000	¥ 300, 000	¥ 400, 000	¥17, 016, 000	25.6%
Lighting and Communication	6, 315, 000	1, 200, 000	600, 000	8, 115, 000	12.2〃
Motive Power	1, 998, 000	600, 000	300, 000	2, 898, 000	4.3〃
Wireless and Instruments	37, 716, 300	525, 000	300, 000	38, 541, 300	57.9〃
Total	¥62, 345, 300	¥ 2, 625, 000	¥ 1, 600, 000	66, 570, 300	100.0%

8. 価格百万円以上の品目

Table 12は百万円以上の経費を要した品目につき，その所属部門，数量，単価，金額を明示したものである．

Table 12. The Price List of Articles (Amount > 1,000,000 yen)

Part	Name of Article	Quantity	Unit	Unit Price	Amount
Steel and Iron					
Deck	Steel Plate	498.3	Ton	¥ 52,000	¥ 25,911,600
〃	〃	45.0	〃	50,000	2,250,000
Engine	〃	20.0	〃	50,000	1,000,000
〃	Striped Steel	6.0	〃	60,000	360,000
Deck	Section Steel	100.0	〃	50,000	5,000,000
〃	〃	8.0	〃	45,000	360,000
Engine	〃	4.0	〃	45,000	180,000
Deck	Bar Steel	8.0	〃	43,000	344,000
Engine	〃	2.0	〃	43,000	86,000
Deck	Forged Steel	3.0	〃	120,000	360,000
〃	〃	4.0	〃	180,000	720,000
Engine	〃	6.3	〃	120,000	756,000
Deck	Cast Steel	5.0	〃	170,000	850,000
〃	〃	1.0	〃	150,000	150,000
〃	Cast Iron	2.0	〃	100,000	200,000
Engine	〃	3.5	〃	80,000	280,000
Deck	Rivet	3.0	〃	80,000	240,000
〃	Bolt Nut	4.0	〃	90,000	360,000
Engine	〃	2.0	〃	90,000	180,000
Deck	Gas Pipe White	4.94	〃	90,000	444,600
〃	〃 Black	4.0	〃	75,000	300,000
Engine	〃	10.0	〃	75,000	750,000
〃	Steel Pipe	1.0	〃	120,000	120,000
	Total	754.04	Ton		¥ 41,202,200
Deck	Cast Bronze	1	Ton	600,000	600,000
Engine	〃	750	K.G.	900	675,000
〃	Manganese Bronze	3	Ton	500,000	1,500,000
Lumber or Timber					
Deck	Lumber, Soft	100	Koku	¥ 4,000	¥ 400,000
〃	〃 〃	200	〃	5,000	1,000,000
〃	〃 , Hard	80	〃	12,000	960,000
〃	Wooden Deck Plank	143	〃	16,000	2,288,000
〃	Veneer Plank	1	Set		1,500,000
〃	Lumber, Soft	130	Koku	5,000	650,000
Engine	〃 〃	5	〃	4,000	20,000

	Total	658 1	Koku Set	}	6, 818, 000
Deck	Paint	10	Ton	200, 000	2, 000, 000
〃	37K.W. Electric Windlass with motor	1	Set		3, 000, 000
〃	25K.W. Electric Capstan with motor	1	〃		1, 300, 000
〃	7. 5K.W. Electro-Hydraulic Steering Gear	1	〃		1, 880, 000
〃	Valves	1	〃		1, 007, 000
〃	Scuttle	1	〃		1, 300, 000
〃	Upholstery	1	〃		1, 500, 000
〃	Machinery in Galley	1	〃		1, 500, 000
〃	Various materials	1	〃		1, 434, 350
〃	Refrigerator	1	〃		17, 000, 000
〃	Vinyl Cork	1, 920	Sheet	600	1, 152, 000
〃	67. 5K.W. Trawl Winch with motor	1	Set		6, 714, 000
〃	Canning Plant	1	〃		3, 000, 000
〃	Legal Fittings	1	〃		2, 000, 000
〃	Nautical Instruments	1	〃		32, 536, 200
〃	Life Rescue Apparatus	1	〃		10, 079, 000
〃	General Fittings	1	〃		1, 300, 000
〃	Instruments of Oceanographic Observation and Laboratory	1	〃		6, 691, 200
Engine	1, 700 P.S. Diesel Main Engine	1	〃		26, 717, 000
〃	250 P.S. Diesel Aux. Engine	3	〃	4, 000, 000	12, 000, 000
〃	Main Air Compressor with motor	2	〃	930, 000	1, 860, 000
〃	Lubricating Oil Pump with motor	2	〃	875, 000	1, 750, 000
〃	Universal Working Machine	1	〃		1, 600, 000
〃	Arrangement of Distilled Water	1	〃		1, 620, 000
〃	Engine Fittings	1	〃		2, 500, 000
Electricity	200KVA Motor Generator	3	〃	2, 350, 000	7, 050, 000
〃	Main Distributing Board	1	〃		6, 000, 000
〃	Transformer	6	〃	200, 000	1, 200, 000
〃	Wireless Apparatus	1	〃		12, 350, 000
〃	Loud Speaker	1	〃		1, 000, 000
Wages of Workman					
Deck	For Hull, Hull Equipment, Refrigerating and Fishing Arrangement	12, 618	Man	1, 000	12, 618, 000

Engine	For main engine, aux, engine and Engine Equipment	4, 335	〃	〃	4, 335. 000
Electricity	For Electric Source, motive power and Wireless apparatus	1, 400	〃	〃	1, 400, 000
	Total	18, 353	Man		¥ 18, 353, 000
Electric Welding					
Deck	For Hull, Hull Equipment and Refrigerating Arrangement	25, 000	Hour	480	12, 000, 000
Engine	For Main Engine, Aux. Engine and Engine Equipment	2, 200	〃		1, 056, 000
	Total	27, 200	Hour		¥ 13, 056, 000
Design					
Deck	For Hull, Hull Equipment and Refrigerating Apparatus	1	Set		5, 000, 000
	For Main Engine Aux. Engine and Engine Equipment	1	〃		1, 810, 000
	Total	2	Set		¥ 6, 810, 000
Charge of Tower Crane					
Deck	For Hull, Hull Equipment and Refrigerating Arrangement	630	Hour	1, 500	945, 000
	For Aux, Engine and Engine Equipment	250	〃	〃	375, 000
	Total	880	Hour		¥ 1, 320, 000

9. 航海計器及び海洋観測・実験器材価格

これらの計器については最新式にして性能の優秀なものを多数装備したので，その経費も約4千万円の多額に達した．その価格は Table 13及び Table 14に示す．

Table 13. The Cost List of the Instruments of Navigation

Name	Number	Maker	Cost
magnetic Compass (Reflection Type)	1	Tokyo Keiki	510, 000
〃 (Stand Type)	1	〃	
Rader Decca TM-909	1	Decca	5, 205, 000
〃 R.C.A. CR-103 (Renewing Cost of M. G.)	1	Sampa Kogyo	400, 000
Rudder angle Indicator	1	Tokyo Keiki	85, 000
Faximile	1	Nihon Musen	850, 000
Loran	1	Koden	620, 000
Decca Navigator (Kit only)	1	Decca	110, 000

Gyro Compass (Sperry Mark 14, Mod. T.)		1	Tokyo Keiki	4, 700, 000
〃	Repeater	6	〃	
Gyropilot (Tokyo Keiki) MK-1 with Remote Contoller		1	〃	
Course Recorder		1	〃	
Track Recorder (Dead Reckoning Indicator)		1	Hokushin Denki	1, 650, 000
Electric Log (Towing Type)		2	Tsurumi Seiki	240, 000
Bottom Pressure Log		1	Hokushin Denki	550, 000
Echo Sounder	Marine Graph	1	Nihon Denki	480, 000
	Van Graph	1	〃	600, 000
	NEC-811 for very deep sea	1	〃	2, 950, 000
	SD-1500 (Portable)	1	〃	850, 000
Sea Scanner		1	〃	2, 050, 000
Chronometer		1	Naldan	200, 000
Sextant		10	Tamaya	368, 000
Binocular		5	Nihon Kagaku	71, 000
Binoculartelescspe		1	〃	176, 000
Oscillometer		1	Ryokumeisha	120, 000
Electeic Transmitter for Wind direction and Speed		1	Koshin Denki	550, 000
Robinson Wind Indicator		1	Nunotani Keiki	20, 000
Aneroid Barometer		1	Utsugi	45, 000
Assmans Aspiration Psychrometer		1	Ota Keiki	7, 500
Self Registering Barometer		1	〃	10, 700
〃	Thermometer	1	〃	10, 400
〃	Hygrometer	1	〃	10, 600
〃	Pyrheliometer	1	〃	20, 000
〃	Rain Guage	1	〃	26, 000
〃	Evaporation Guage	1	〃	11, 000
G.E.K.		1	Rikagaku Kenkiyusho	1, 200, 000
5, 000M Electric Sounding Machine		1	Tsurumi Seiki	3, 700, 000
3, 000M 〃		1	〃	4, 000, 000
Hand Sounding Machine		2	〃	140, 000
			Total	32, 536, 200

Table 14. The Cost List of the Instruments of Oceanographic Observation and the Laboratory

Name		Number	Maker	Cost
Bathermograph		1	Tsurumi Seiki	¥ 121, 000
Reversing Thermometer	Protected	15	Watanabe keiki	202, 500
〃	Unprotected	10	〃	170, 000
Reversing Thermometer for Deep Sea	Protected	2	〃	27, 000
〃	Unprotected	2	〃	39, 000
Reversing water bottle	With metal Tube	5	Tsurumi Seiki	97, 500
〃	With Polyethylene Tube	5	〃	132, 500

SurfaceWater Sampler	1	〃	2,600
Submarine Clinometer	5	〃	77,500
Wire Angle Indicator	3	〃	8,700
Ekman-Merz Current Meter	2	〃	97,600
Electric Current Meter	2	〃	670,000
Sampler Bottom Type	1	〃	48,000
〃 Piston Type	1	〃	5,200
〃 Underway Type	1	Rigosha	31,000
Depressor	1	Tsurumi Seiki	5,200
Submarine Photometer	1	Toshiba	86,300
R.B.T. Self Recording Direction Current Meter			
Wire Type	2	Tsurumi Seiki	130,030
Wireless Type	2	〃	1,039,000
Wave Recorder	1	Tamaya	169,000
Photoelectric Colorimeter	1	Kotaki Seisakusho	150,000
Centrifugal Separater	1	Sakuma Seisakusho	35,000
Grass Electrode PH Meter	1	Horiba Seisakusho	90,000
Automatic Determination apparatus of Chrorine Content	1	Mitamura	343,000
Thermostatic incubator (Shaking Type)	1	〃	155,000
Electric Thermostat	1	〃	90,000
Electric Constant Drier	1	〃	73,000
Electric Hearth	1	〃	
Pure Water Preparing Apparatus (Ion Exchanger Resins Type)	1	Nihon Orugano Shokai	110,000
Balance upscale	1	Yamato Seiko	1,100
〃 Selft acting upscale	1	〃	1,400
Electric Counter	1	Maruzen	450,000
Binocular Microscope	1	Union Kogaku	271,000
Phase Microscope	1	Orinpas Kogaku	97,000
Light Source of Microscope	1	〃	11,600
Radiation Counter	1	RikagakuKenkyusho	200,000
Surveymeter	1	Riken Keiki	83,500
Micro Recorder	1	Sanshin Kogyo	120,000
Dual Beam CRT Oscillograph	1	Toshiba	580,000
Temperature-Depth Recorder	1	Hiyoshi Denki	670,000
		Total	¥ 6,691,200

10. 仕 様 書 変 更 と 工 事 費

仕様書変更は原則としてすべきではないが,

1. 造船所側より正当の理由をもって変更の要請があった.
2. 学校側において変更の必要を認めた.
3. 学校側において追加工事の必要を認めた.
4. N. K. より変更のリコメンドがあった.

場合，慎重検討を加え，事情やむを得ないと認めたものは変更することにした．勿論このために工事費の増減又は追加をきたし，このバランスをとるため相当苦心を要したが結局仕様書変更又は追加工事を行うことは，たとえ止むを得ざる理由があるにしても工事費の点から見れば船主側に不利になることは明らかである．

11. むすび

以上本船建造工事費の内容について詳しく述べたが，この中で注目すべきことは Table 8 の中で3部の占める工事費の比率は甲板部がその約½を占めることは当然としても後の½の中で電気部が機関部とあまり変らない比率を示していることである．これは本船の諸設備が著るしく電化されていることを雄弁に物語るものであるが，今後建造されるこの種の船においては益々この電化への傾向が増大するのではなかろうか．

終りに，本文のために資料を提供して下さった日立造船株式会社及び漁船協会に対し深い謝意を表する．

昭和36年12月15日　印　刷
昭和36年12月25日　発　行

編集兼
発行者　鹿児島大学水産学部
鹿児島市下荒田町 470

広島市空鞘町111
印刷者　増　田　訓　清

印刷所　大学印刷株式会社

CONTENTS

1. WADA, Seiji K.: Fertilizability of Crassostrea and Pinctada Eggs as Related to Germinal Vesicle Breakdown. ····1

2. SAITO, Kaname: Radiological Survey in the Indian Ocean in 1961. ····9

3. SAMESHIMA, Muneo, and Kaname SAITO: Studies on the Radiological Contamination of Fishes, Sea Water and Plankton in the Southern Region of Kagoshima Prefecture during the Period from November 1959 to December 1960 (in Japanese).····15

4. HIDAKA, Tomio: On the Proteolysis and Coagulation of Actomyosin Fraction of Fish Muscle by Action of Bacterial Proteinase (in Japanese). ····23

5. KANAZAWA, Akio: Studies on the Vitamin B-complex in Marine Algae—I. On Vitamin Contents (in Japanese).····38

6. OCHI, Michitoshi: Studies on the Tannage of Fish Skin (in Japanese). ····70

7. TANOUE, Toyotaka: On the Relation between Body-temperature of Mackerel "Gomasaba" and its Fishing Depth (in Japanese). ····90

8. NARASAKO, Yoshikazu: Experiments Performed in a Large Circulating Tank on a Model of a Fishing Vessel of Gross Tonnage about 1000 Tons (in Japanese). ····96

9. GENKA, Tomoyuki, and Kazuo TAGUCHI: Study on the Effects of Time-difference Measured by Loran at the Fixed Spot in Kagoshima (in Japanese). ····102

Notes

TAKAHASHI, Kenzo: On the Building Cost of "Kagoshima-maru", Fisheries Training Ship, Kagoshima University (in Japanese). ····118